

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS PROGRAMA
DE BACTERIOLOGÍA**



ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE *Cándida guilliermondii* ante *Streptococcus mutans*

KAREN JULIETTE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

**TRABAJO DE GRADO Presentado
como requisito parcial Para optar
al título de**

BACTERIOLOGO

**Bogotá, D. C.
Noviembre de 2012**

ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE *Cándida guilliermondii* ante *Streptococcus mutans*



KAREN JULIETTE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

Firma manuscrita de Fredy Omar Gamboa Jaimes.

FREDY OMAR GAMBOA JAIMES
BACTERIÓLOGO M.Sc. Ph.D
DIRECTOR

Firma manuscrita de Azucena Arevalo Galvis.

AZUCENA AREVALO GALVIS
BACTERIÓLOGA M.Sc
EVALUADORA

NOTA DE ADVERTENCIA

"La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia".

Artículo 23 de la Resolución No13 de julio de 1946.

DEDICATORIA

A Dios, por haberme dado salud y fuerza para llegar hasta este punto, logrando así mis objetivos, fortaleciéndome e iluminando mi camino con personas que han sido mi soporte y compañía durante estos años de estudio

A mis padres Carlos y Mireya, que me han apoyado y han estado conmigo en todas las etapas de mi vida dándome todo su amor y palabras de aliento cuando las he necesitado; por sus consejos, valores y motivación; por ser mi ejemplo de constancia y perseverancia.

A mi hermana Melissa, por estar conmigo, respaldarme siempre, creer en mí y ser mi estímulo.

Los amo mucho.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por brindarme la posibilidad y dicha de la vida, por darme los medios necesarios para continuar mi formación, siendo mi motivación para llegar lejos, sin él no hubiera podido alcanzar este logro tan grande.

Quiero agradecer a mi papá, Carlos Julio Rodríguez, a mi mamá, Mireya Martínez Angarita y a mi hermana, Melissa Rodríguez Martínez, sin ustedes esto no habría sido posible.

Fundamentalmente agradecer al Doctor Fredy Omar Gamboa Jaimes, mi director de trabajo de grado. Sus observaciones y críticas hicieron que este trabajo saliera adelante y resultara mejor de lo esperado. Gracias por guiarme en el proceso investigativo y en la escritura de este documento. Siento un respeto y admiración profunda a su labor como docente, profesional y persona. Para usted, sólo palabras de agradecimiento de quien siempre lo verá como un ejemplo a seguir.

Quiero agradecer a mi compañera de laboratorio y amiga Yeimy Ávila, por sus largas conversaciones y ayuda durante nuestras prolongadas jornadas de trabajo estos últimos 4 meses. Por último pero no menos importante, a mis amigas Nathaly Roza Gómez y Rocio Villamil Sánchez, quienes estuvieron conmigo siempre y me alentaron durante estos años que estuve en la Universidad Javeriana. Gracias por la amistad brindada, las quiero mucho.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	8
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	9
3. MARCO TEÓRICO.....	10
4. OBJETIVOS.....	13
5. METODOLOGÍA.....	14
6. RESULTADOS.....	17
7. DISCUSIÓN.....	21
8. CONCLUSIONES.....	22
9. RECOMENDACIONES.....	23
10. BIBLIOGRAFÍA.....	24

RESUMEN

Este estudio se realizó con el objetivo de establecer la actividad antagónica de *Cándida guilliermondii* frente a *Streptococcus mutans*, además determinar el crecimiento de esta levadura en medios de cultivo como BHI, TSA y Mueller hinton.

Las pruebas de antagonismo se ejecutaron en caldo y agar YGC con el ensayo de doble capa en el que la cepa productora (*C. guilliermondii*) se sembró en agar YGC y se enfrentó con la cepa indicadora (*S. mutans*) para obtener los halos de inhibición; se tuvo en cuenta los halos mayores a 4mm.

Se alcanzó un excelente crecimiento y viabilidad de la levadura en los diferentes medios de cultivo (BHI, Muller hinton y TS). A pesar de esto, el crecimiento fue intermitente.

Igualmente se observó la actividad antagónica de la *C. guilliermondii* a partir del YGC frente a *S. mutans*.

También, se obtuvo como resultado que la inhibición que produce esta levadura no se debe a la producción de Xilitol.

El impacto que se espera con este estudio es la posibilidad de usar una levadura antagónica como *C. guilliermondii* contra *S. mutans* y en posteriores investigaciones observar esta actividad en otras bacterias causantes de caries y que en algún momento sea planteado su uso en estrategias de prevención de caries en productos de higiene oral convencionales y su posible uso en artículos de cuidado bucal novedosos usando el mismo mecanismo que los, hoy muy usados, geles antibacteriales, beneficiando a los usuarios al tener acceso a estos productos más económicos y con similares privilegios y cualidades a los utilizados por la población.

1. INTRODUCCIÓN

La caries dental es una enfermedad infecciosa multifactorial que destruye los tejidos duros del diente, generando así una desmineralización por los ácidos que genera la placa bacteriana a partir de la ingesta y permanencia prolongada de los hidratos de carbono. La placa bacteriana es consecuencia de la acumulación de microorganismos que se acumulan en la boca, se depositan en los dientes y mucosa bucal y provocan enfermedades tales como caries dental, enfermedad periodontal, inflamación de las encías, entre otras¹.

Este estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antagónico de la levadura *Cándida guilliermondii* sobre *Streptococcus mutans*. Esta investigación se fundamentó en que la levadura *Cándida guilliermondii*, ha sido usada en estudios anteriores y ha demostrado que no tiene ningún grado de patogenicidad para el humano, no tiene capacidad de fermentar sino que asimila los carbohidratos², y genera como producto final un alcohol llamado Xilitol, el cual actúa como un agente anticaries. Este estudio puede abrir las puertas para utilizar la *C. guilliermondii* en la elaboración de algunas gomas de mascar y podría usarse en productos de higiene oral.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La levadura *C. guilliermondii* es un microorganismo del cual no hay estudios en esta área ya que es una levadura que se ha usado hasta ahora en estudios relacionados con la deshidratación de frutos.

La principal motivación para la realización del presente estudio fue abrir un nuevo plano de investigación ampliando campos de estudio para esta levadura.

El área de investigación que se comenzó en este trabajo, en el contorno odontológico, se dio observando la versatilidad y la no patogenicidad de esta levadura para los humanos, la cual sin ningún riesgo para este, podría utilizarse en los productos de higiene oral, disminuyendo costos en el ámbito industrial.

C. guilliermondii produce un efecto antagónico en una de las bacterias más importantes en la formación de placa dental y caries, *S. mutans*. Por esta razón, vemos una expectativa alta en los medios investigativos.

3. MARCO TEÓRICO

Según la OMS, la caries dental es una de las enfermedades más prevalentes en la población mundial, debido a que es una enfermedad infecciosa, transmisible, producida por la concurrencia de bacterias específicas capaces de producir ácido suficiente para descalcificar la estructura del diente¹.

Una de las primeras manifestaciones de la patología, empieza en los incisivos primarios superiores, como una mancha opaca y área de desmineralización prolongándose por la margen gingival, si se deja pasar el tiempo sin ningún tipo de tratamiento, la caries avanza y comienza a rodear los cuellos de las piezas dentales, finalmente, en situaciones avanzadas, las coronas de los incisivos superiores se llegan a destruir completamente dejando solo la raíz de diente. Los molares inferiores primarios, con frecuencia, se ven afectados por el estancamiento de líquidos cariogénicos. Otras superficies dentales pueden cariarse dependiendo de la duración y frecuencia de los malos hábitos alimenticios e higiénicos³.

Los resultados del III ENSB en 1999 muestran que el 53.5% de la población con dientes temporales tiene historia de caries, y la prevalencia de caries en la dentición primaria, asciende al 45.7%. Respecto a la caries en dentición permanente se presenta a los 7 años en el 19.9% de los niños y a los 12 en el 71.9%; entre los 15 y 19 años, la proporción aumenta a 89.5%; la prevalencia en el total de la población es del 65.3%⁴.

El 9 de febrero del 2012 la Pontificia Universidad Javeriana firmó un acuerdo con la OPS/OMS en el cual la Facultad de Odontología de la PUJ coordinará una prueba piloto en la cual se evaluará la utilidad y aceptación de los módulos de Prevención y Manejo Integral de las Enfermedades Orales (PMIEO), desarrollados por la OPS para profesionales de Atención Primaria en Salud (APS). Este acuerdo pertenece a la iniciativa Comunidades Libres de Caries de la OPS/OMS; en la cual se quiere integrar la salud oral en los servicios de APS en el área del diagnóstico y prevención de enfermedades orales⁵.

Cándida guilliermondii

El género *Cándida sp.* pertenece a la clase Blastomycetes basado principalmente en la composición de los ácidos grasos y en el cariotipo electroforético. El nombre del género significa "blanco radiante" y de ahí que sus células no contengan pigmentos carotenoides⁶.

Según estudios recientes se ha reportado que *C. guilliermondii* tiene la capacidad de deshidratar los frutos y ha sido utilizada en control biológico; en cuanto a sus capacidades bioquímicas no presenta tubo germinal y no tiene capacidad de fermentar sino que asimila los carbohidratos². La especie *C. guilliermondii* que se utilizó en el presente estudio no tiene ninguna actividad patógena, por lo cual podría ser empleada para combatir la placa bacteriana causante de caries en humanos.

C. guilliermondii produce una micosis oportunista en pacientes inmunosuprimidos y causa el 0.7% de las candidiasis a nivel mundial, 3.7% en Latinoamérica y el 4.0% en Colombia. Esta levadura es considerada un patógeno emergente⁷, este fenómeno se puede deber a su baja sensibilidad al fluconazol; este es el antimicótico de preferencia para micosis oportunistas.

C. guilliermondii produce fungemia, osteomielitis y peritonitis, tiene baja sensibilidad al fluconazol y a la anfotericina B⁷.

Respecto a los metabolitos que produce esta según literatura produce 14 alcoholes como xilitol, isobutanol, isopentanol, entre otros, y su producto final es el acetato de etilo⁹.

Su factor de virulencia es la adherencia.

Streptococcus mutans

Streptococcus mutans es una bacteria Gram positiva anaerobia facultativa, α -hemolítico, no posee cápsula, catalasa negativa, ureasa negativo y fermenta manitol, inulina, sorbitol y esculina.

Se ha encontrado que *S. mutans* es el microorganismo que presenta mayor prevalencia en la génesis de caries.

La caries se debe a un mal hábito en la alimentación y exposición frecuente y duradera de los dientes a una fuente de carbohidratos refinados. Cuando existe un aporte abundante de estos hidratos se produce un aumento de las cepas cariogénicas como *Streptococcus mutans*³. Esta bacteria juega un papel muy importante en el desarrollo de la caries dental, ya que es capaz de fermentar el manitol, sorbitol y otros azúcares a partir de la sacarosa y a su vez produce ácidos que influyen en la descalcificación de los dientes¹⁰.

Sus factores de virulencia son la formación de biopelículas, sistema de exclusión de protones y expulsión de ácidos¹¹, los factores de cariogenicidad son: síntesis de polisacáridos intracelulares, síntesis de polisacáridos extracelulares de tipo glucanos insolubles y solubles y fructanos, movilización de polisacáridos intracelulares por glucógeno fosforilasa y extracelulares por dextranasas y

fructanasas, poder acidógeno, acidófilo y acidúrico, inicio de crecimiento a pH 5 y corto efecto post-pH, importante capacidad adhesiva por las proteínas parietales, que posibilitan su adhesión a superficies duras en ausencia de glucanos, y agregativa y coagregativa a través de mutanos, glucosiltransferasas y proteínas receptoras de glucanos y producción de bacteriocinas con actividad sobre otras bacterias grampositivas que podrían tener una significación ecológica, aunque no está demostrado *in vivo* su importancia como factor selectivo de la microbiota¹².

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Establecer la actividad antagónica de *Cándida guilliermondii* frente a *Streptococcus mutans*.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el crecimiento de la levadura *Cándida guilliermondii* en agar BHI, Mueller hinton y TSA.
- Evaluar el efecto antagónico por la técnica de doble capa de *Cándida guilliermondii* frente a *Streptococcus mutans*

5. METODOLOGÍA

5.1 RECUPERACIÓN Y VIABILIDAD DE LAS CEPAS.

5.1.1 *Cándida guilliermondii*

C. guilliermondii fue obtenida de la colección del Doctor Gerardo Moreno del Departamento de Microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana. La cepa fue dada en el medio YGC y a partir de este medio fue recuperada.

Se realizó resiembras en agar BHI, TSA, Mueller hinton y YGC. Estos aislamientos se incubaron a 28 - 30°C.

5.1.2 *Streptococcus mutans*.

La cepa *S. mutans* utilizada en el presente estudio es de referencia ATCC 25175 y se encontraba en perfectas condiciones conservadas en el Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología. Fue puesta en condiciones adecuadas para los ensayos antimicrobianos.

Se realizó resiembras en agar BHI, TSA, Mueller hinton y YGC. Estos aislamientos se incubaron a 28 - 30°C.

5.2 PRUEBAS DE ANTAGONISMO A PARTIR DE CALDO YGC.

Para los ensayos antimicrobianos las dos cepas, *C. guilliermondii* y *S. mutans*, fueron cultivadas en agar YGC para preparar las suspensiones utilizadas.

La técnica empleada fue la de ensayo de doble capa, en el que se siembran las cepas que actúan como productoras y las cepas que actúan como indicadoras. La cepa productora, en este caso *C. guilliermondii*, es aquella que tuvo acción antagónica sobre la cepa indicadora *S. mutans*. Con este fin, varias colonias de *C. guilliermondii* fueron resuspendidas en caldo YGC a la escala 0,5 de Mcfarland y llevadas a incubación a 28-30°C durante 48 horas. A partir de esta suspensión se realizó la siembra con micropipeta (2ul) sobre el agar y se llevó a incubación a 30 °C durante 48 horas. Después de ese tiempo de incubación, se ubicó sobre la cepa productora, la cepa indicadora (*S. mutans*). La cepa indicadora es aquella que sufrió la acción de la cepa productora. Con este fin, varias colonias de la cepa fueron resuspendidas en caldo YGC a la escala 0,5 de Mcfarland y mantenidas en incubación a 30 °C durante 48 horas. Posteriormente se tomaron 0.5 ml de esta suspensión, se mezclaron con 10 ml de agar YGC y se agregó inmediatamente sobre el agar en el que creció la cepa productora preparada en el paso anterior.

Estas cajas de petri con agar YGC en doble capa, en las que estaban sembradas tanto la cepa productora *C. guilliermondii* como la indicadora *S. mutans*, fueron llevadas a incubación a 28-30°C durante 48 horas. Al cabo de estas últimas, la acción antagónica se reflejó en la presencia de un halo de inhibición realizado por la cepa productora sobre la cepa indicadora. Para establecer el efecto antagónico se tomaron en cuenta los halos de inhibición mayores de 4 mm. Este procedimiento se realizó de la misma manera sustituyendo la cepa productora por el xilitol al 1%, 3%, 7% y 10% y de esta manera evaluar si el efecto antagónico era provocado por este metabolito producido por la *C. guilliermondii*¹³.

6. RESULTADOS

6.1 Crecimiento en Agar BHI, TSA y Mueller hinton

Se obtuvo un excelente crecimiento y viabilidad de la levadura *C. guilliermondii* en los diferentes medios de cultivo evaluados como podemos observar en las imágenes 1, 2 y 3 (BHI, Mueller hinton y TSA respectivamente) aunque este crecimiento no es constante ya que se observa crecimiento por un periodo de tiempo, posteriormente se deja de obtener dicho crecimiento.



Imagen 1. Crecimiento de *C. guilliermondii* en agar BHI



Imagen 2. Crecimiento de *C. guilliermondii* en agar Mueller hinton

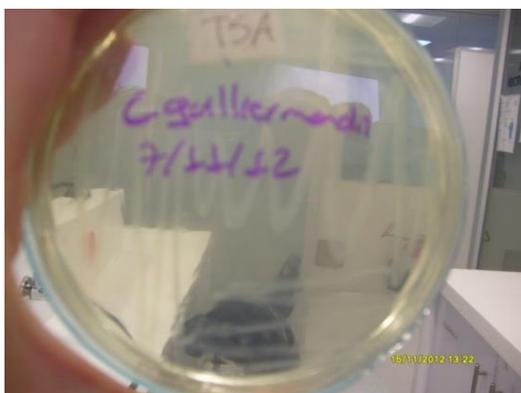


Imagen 3. Crecimiento de *C. guilliermondii* en agar TSA

6.2 Prueba de antagonismo en caldo YGC

Se realizó la prueba de antagonismo en agar YGC con las cepas anteriormente nombradas. Como complemento al presente trabajo se realizó esta prueba con *S. aureus* de referencia ATCC 95923 y *E. coli* de referencia ATCC 25922, aunque son bacterias que se encuentran muy pocas veces en cavidad oral, son microorganismos comunes y que amplían la investigación a otras áreas. Estas bacterias se presentan en boca de las siguientes condiciones:

E. coli, se relaciona con contaminación oro-fecal y en estudios recientes se ha asociado a periodontitis crónica; *S. aureus* se relaciona con todo tipo de abscesos sin ser la excepción los que se presentan en cavidad oral.

Estas pruebas se realizaron por cuadruplicado obteniendo los siguientes resultados.

CEPA INDICADORA	PRUEBA 1 (mm)	PRUEBA 2 (mm)	PRUEBA 3 (mm)	PRUEBA 4 (mm)	PROMEDIO (mm)
<i>S. mutans</i>	13	13	14	13	13.25
<i>S. aureus</i>	14	15	13	15	14.25
<i>E. coli</i>	8	8	8	8	8

Tabla 1. Actividad inhibitoria medida en mm de *C. guilliermondii* frente *S. mutans*, *S. aureus* y *E. coli*.



Imagen 4. Prueba antagónica de *C. guilliermondii* frente a *S. mutans*



Imagen 5. Prueba antagónica de *C. guilliermondii* con *S. aureus*



Imagen 6. Prueba antagónica de *C. guilliermondii* con *E. coli*

Estos resultados muestran que la *C. guilliermondii* si produce un gran efecto antagónico sobre estas bacterias que se presentan en cavidad oral como se observa en la imágenes 4, 5 y 6 (*S. mutans*, *S. aureus* y *E. coli* respectivamente).

Se realizó controles de antibióticos para observar si estas bacterias utilizadas en el estudio se encontraban en buenas condiciones usando cada antibiótico como control positivo en el caso de la bacteria en la cual genera una actividad antibiótica; y como control negativo en el caso de las bacterias en las cuales no producía dicha actividad antibiótica, adicional a estos antibióticos se usó solución salina como control negativo para las 3 bacterias como se relaciona la tabla 2.

	<i>S. mutans</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)
Amikacina	_____	_____	18
Vancomicina	_____	18	_____
Amoxicilina	23	_____	_____
Solución salina	_____	_____	_____

Tabla 2. Controles de sensibilidad positivos y negativos para las bacterias medida en mm.

Se usaron estos antibióticos los cuales se clasifican de esta manera: la amikacina es un antibiótico aminoglicósido y su mecanismo de acción es inhibir la síntesis proteica bacteriana, se considera sensible con un halo ≥ 17 mm; la vancomicina es un antibiótico glicopéptido; inhibe la biosíntesis de la pared celular bacteriana, interfiere en la síntesis de ARN y daña la membrana celular bacteriana y se considera sensible con un halo ≥ 15 mm; por último está la amoxicilina que pertenece a los betalactámicos y su mecanismo de acción es inhibir la acción de peptidasas y carboxipeptidasas impidiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, se dice que es sensible con un halo ≥ 18 mm^{14,15}.

6.3 Prueba de antagonismo usando Xilitol

Como se habló anteriormente, se realizó una prueba adicional en la cual se reemplazó la cepa productora por el xilitol para comprobar si este efecto antagonico de *C. guilliermondii* frente a estas bacterias se debe a la producción de este metabolito.

En este caso no obtuvimos halos de inhibición frente a ninguna de las 3 bacterias en las concentraciones de 1, 3, 7 y 10% como se muestra en las imágenes 7, 8 y 9 (*S. mutans*, *S. aureus* y *E. coli* respectivamente).

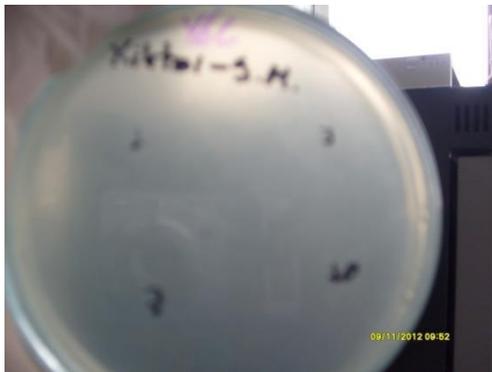


Imagen 7. Prueba antagonica reemplazando *C. guilliermondii* por Xilitol frente a *S. mutans*



Imagen 8. Prueba antagonica reemplazando *C. guilliermondii* por con Xilitol frente a *S. aureus*



Imagen 9. Prueba antagonica reemplazando *C. guilliermondii* por Xilitol frente a *E.coli*

7. DISCUSIÓN

Debido a que no se encuentran estudios anteriores similares a este ya que es el primer trabajo que se realiza de este tipo, no hay un referente para elaborar la discusión respecto a la actividad antagónica de *C. guilliermondii* frente a *S. mutans*, *S. aureus* y *E. coli* propiamente dicho. Debido a esto este estudio es de gran valor para la investigación en productos de higiene oral y la utilización de los metabolitos activos de esta *Candida* en esta área.

Se observó que *C. guilliermondii* produce un mayor efecto antagónico en bacterias Gram positivas (*S. mutans* y *S. aureus*) que en la bacteria Gram negativa (*E. coli*). Por esta razón, se debe realizar una mayor investigación en diferentes bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas para saber a ciencia cierta a que se debe este fenómeno.

Se debe seguir trabajando para encontrar cual es el metabolito activo que produce *C. guilliermondii* y genera esta actividad antagónica.

A pesar de esto, se encontró mucha literatura en la cual nos habla de las pruebas de antagonismo que son muy comunes y de gran utilidad en nuestro ámbito investigativo utilizando diferentes tipos de microorganismos.

Este método de valoración es de gran importancia en un campo que cada día toma más fuerza como lo es el control biológico de plagas y microorganismos causantes de pérdidas en el área agrícola y la no utilización de plaguicidas, bactericidas y fungicidas químicos que generan problemas de salud al agricultor y al consumidor de estos productos¹⁶.

Gracias a su baja capacidad fermentativa, no producir ácidos y no ser patógena; *C. guilliermondii* es una excelente candidata para experimentación en el área de odontología.

Por otro lado, el resultado obtenido con la experimentación con el Xilitol a diferentes concentraciones (1, 3, 7 y 10%) y con diversas cepas nos muestra que el Xilitol no es el causante de esta actividad antagónica. Esto ya había sido demostrado en otros estudios ya que el Xilitol no produce ninguna actividad antibacterial. Esta actividad antibacterial es erróneamente atribuida a este alcohol ya que, en productos como gomas de mascar, sustituyen el carbohidrato que es adicionado a esta por el Xilitol; por lo tanto, las bacterias no poseen el sustrato para su proliferación.

Se han realizado estudios sobre los metabolitos que genera esta *Cándida*, además del Xilitol⁹, pero no fueron evaluados en este trabajo ya que no era objetivo demostrar cual de estos metabolitos que produce la *C. guilliermondii* da como resultado esta actividad.

8. CONCLUSIONES

La cepa *C. guilliermondii* produce una actividad antagónica frente a *S. mutans*, *S. aureus* y *E. coli*, lo cual nos muestra que uno de los metabolitos, diferente al Xilitol, que produce dicha levadura actúa como agente antibacterial, inhibiendo la proliferación de estas bacterias.

Se observó que la cepa *C. guilliermondii* produce una mayor inhibición en bacterias Gram positivas que en bacterias Gram negativas.

Debido a su ausencia de patogenicidad, *C. guilliermondii* puede ser utilizada en la industria odontológica para la producción de productos de higiene oral comunes e innovar con productos que cumplan una función similar a la de los antibacteriales, que cada día se difunden más.

El Xilitol en concentraciones hasta 10% no produce ningún tipo de inhibición en las bacterias empleadas como cepas indicadoras en el presente estudio, por lo tanto este efecto antagónico se debe a un metabolito diferente.

La cepa *C. guilliermondii* debe ser mas estudiada debido a sus amplios campos de acción en diferentes disciplinas, además de la deshidratación de frutos.

9. RECOMENDACIONES

Extraer los metabolitos de productos fermentados de *C. guilliermondii* y evaluarlos para definir el metabolito activo que genera la actividad antagónica.

Estandarizar la prueba para observar hasta que concentración de colonias tanto de la cepa productora como de la cepa indicadora se produce la inhibición.

Observar el comportamiento de *C. guilliermondii* en biopelículas.

Mirar si en aislamientos clínicos de pacientes con caries, estas bacterias producen algún efecto perjudicial sobre la *Candida*.

Elaborar modelos de concentración para relacionar la capacidad de colonización de *C. guilliermondii* en diente y mucosa oral *in vivo*.

Continuar indagando e investigando sobre la levadura *C. guilliermondii*, ya que ha sido muy poco estudiada y a grandes rasgos se pudo observar que existen muchos interrogantes que merecen ser estudiados, principalmente en este campo.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Palomer, L. Caries dental en el niño. una enfermedad contagiosa. Scielo, *Revista Chilena de Pediatría*, 2006, 56–60.
2. Guayazan, L. Evaluación de diferentes condiciones en el proceso de liofilización de *Candida guilliermondii* para el aumento de su viabilidad 2001.
3. Texeira, V., Melara, A., Sáez, S., & Bellet, L. 2007. Caries de Primera infancia. *Revista Odontológica de especialidades (RODE)*, 2007, 5–77.
4. Acuña, C., Talero, A., Moreno, I., Santa, P. Prevención protección específica.
<http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/odontologia/2005197/capitulos/cap3/34.html>. Consultado el 29 de Noviembre del 2012.
5. OPS/OMS. El Programa Regional de Salud Oral de la OPS/OMS y la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana firmaron Acuerdo de Colaboración.
http://new.paho.org/COL/index.php?view=article&catid=767&id=1487%3Aopsoms-y-universidad-javeriana-firman-acuerdo-de-colaboracion&format=pdf&option=com_content&Itemid=554. Consultado el 27 de Noviembre del 2012.
6. Macola, S. Microbiología y parasitología médica (Vol. 1). *Habana: Ciencias Médicas*. 2001
7. Gómez, S., García, S., Bedout, C., García, A. Análisis del perfil proteico de aislamientos clínicos de *Candida guilliermondii* sensibles y resistentes a fluconazol. *Infectio*. 2011. 15 (1): 20-24.
8. Pinoni, M., Castán, V., Maegli, M., Lorenzo, J., Frizzera, F., Jewtuchowicz, V., Mujica, M. Características fenotípicas útiles para la identificación de *Candida guilliermondii*. *Revista Argentina de Microbiología*. 2007. 39: 81 – 83.
9. Naranjo, S. Revisión Sistemática de la literatura sobre los metabolitos generados por la levadura *Cándida guilliermondii*. **Tesis Pregrado**. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C. 2011. 98p.
10. Hamada, S. Biology, Immunology and Cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2008. 331 – 384.
11. Rocha, R., Lozano, P., Martínez, Y. Mecanismos de patogenicidad e interacción parásito-hospedero. Primera edición Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. 2004. 129 p.
12. Liébana, J. Microbiología oral. Segunda edición. McGraw-Hill interamericana. Granada, España. 2002. Pág. 334-335
13. Gamboa, F., Chaves, M., Lamby, C., Fajardo, A., Arevalo, A. Antagonist action of indigenous *streptococcus mutans* strains. *Revista Acata Odontológica Latinoamericana*. 2009. Vol. 22, N° 2. Pág. 129-138.
14. <http://www.vademecum.es>. Consultado el 29 de Noviembre del 2012.

15. Procedimientos en Microbiología Clínica.
<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap11.htm>.
Consultado el 29 de Noviembre del 2012.
16. Mateluna, R. Estudio de actividad antibacteriana de potenciales biocontroles sobre bacterias acéticas involucradas en la pudrición ácida de la uva. **Tesis Pregrado**. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile, Santiago. 2006. 72p.