



BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

LICENCIATURA EN BIOMEDICINA

EJE MICROBIOLOGÍA

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS MICROBIOLÓGICAS

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

RELACIÓN DE LA PREVALENCIA DE ESPECIES DE *CANDIDA* CON EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC) EN INDIVIDUOS UNIVERSITARIOS DE LA CIUDAD DE PUEBLA, PUEBLA

TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE:

LICENCIATURA EN BIOMEDICINA

PRESENTA:

LUIS JORGE VIVEROS ASSAD

DIRECTOR:

M. C. SILVIA MARÍA DEL CARMEN GARCÍA GARCÍA

PUEBLA, PUE. Septiembre, 2022

Índice

Resumen	4
Antecedentes	6
Antecedentes generales	6
Antecedentes específicos	13
Justificación	16
Planteamiento del problema	17
Hipótesis Científica	19
Objetivos	20
Objetivo General	20
Objetivos Particulares	20
Estrategia de trabajo	21
Material y métodos	21
Diseño del estudio	22
Muestreo	22
Definición de la unidad de población	22
Selección de la muestra	22
Criterios de selección de las unidades de muestreo	22
Criterios de inclusión	22
Criterios de exclusión	23
Criterios de eliminación	23
Diseño y tipo de muestreo	23
Tamaño de la muestra	23
Método de recolección de datos	24
Recolección de muestras	24
Técnicas y procedimientos	24
Análisis de datos	27
Diseño estadístico	27
Hipótesis estadística	27

Resultados	28
Discusión	44
Conclusiones	52
Anexos	53
Bibliografía	54

Resumen

En el cuerpo humano reside una colección de diferentes comunidades microbianas a las cuales se les ha delimitado con el término microbiota. Se ha acuñado el término micobiota para referirse únicamente a las comunidades fúngicas. Estas comunidades influyen en la fisiología humana regulando diversos procesos mediante la interacción con el hospedero, ya que se encuentran colonizando superficies y mucosas del cuerpo humano, incluyendo la cavidad oral y el tracto gastrointestinal. Dichas interacciones pueden ser comensales o hasta patógenas. El género *Candida* es uno de los agentes con mayor prevalencia en estas comunidades e interacciones. Diversos factores influyen en la disminución o el aumento en las poblaciones de estas levaduras. Un cambio en la densidad poblacional puede provocar una disbiosis. Recientemente se ha identificado que la microbiota juega un rol en la patogénesis de enfermedades metabólicas como la obesidad. La prevalencia de sobrepeso y obesidad en México es de las más altas en el mundo, donde 7 de cada 10 personas lo presentan. Por lo que un estudio profundo del género *Candida* como parte de la micobiota es de importancia para lograr comprender su papel en el Sobrepeso y la Obesidad, su composición bajo estas condiciones, su función e interacciones. El objetivo de esta investigación fue determinar la relación entre la prevalencia de especies de *Candida* con el Índice de Masa Corporal en individuos universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla.

Se tomaron muestras orales y fecales de individuos con Normopeso (grupo control), Sobrepeso y Obesidad. Se recolectaron datos de Hemoglobina glucosilada, prueba rápida de glucosa en ayunas (mg/dl), IMC y pH salival. También se realizó el aislamiento de las colonias fúngicas, se hizo el conteo de las UFC (unidades formadoras de colonias), la identificación de especies se realizó por métodos convencionales y los datos se analizaron por métodos estadísticos.

Se halló que la especie *C. albicans* fue la prevalente en todas las muestras orales tanto en Normopeso, Sobrepeso y Obesidad. La especie *C. tropicalis* sólo se observó en el grupo con Sobrepeso, en el grupo con Obesidad únicamente se observó la presencia de *C. albicans* sin la presencia de otras especies de *Candida*.

Mientras que la especie predominante en las muestras fecales fue *Candida sp.* en todos los grupos de estudio, seguida de *C. glabrata* y *C. albicans*. Sin embargo, *C. albicans* no se observó en el grupo con Obesidad. Destaca la presencia de *C. tropicalis* en el grupo con Sobrepeso y el de Obesidad, pero no en el de Normopeso. En cuanto al IMC y la colonización de *Candida*, se observó que el aumento en el IMC se relaciona con un menor número de UFC en las muestras orales y fecales de los jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla. Así mismo, se observó que los bajos niveles de glucosa en ayunas se relacionan significativamente con un aumento en las UFC de *Candida* en muestras orales de los jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla. Y los altos niveles de glucosa en sangre se relacionan significativamente con un aumento en las UFC de *Candida* en muestras fecales de los jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla. Sugiriendo que la colonización de *Candida* en muestras fecales se deba principalmente al aumento en el IMC y a los niveles de glucosa en ayunas.

Antecedentes

Antecedentes generales

El cuerpo humano es hospedero de comunidades microbianas cuya abundancia se estima que exceden el número de células humanas [31]. Estas comunidades influyen en la fisiología humana mediante procesos relacionados al desarrollo, nutrición, inmunidad y resistencia de patógenos. El término microbiota representa la colección de todos los taxones que abarcan comunidades microbianas, donde se incluyen bacterias, hongos y protistas [1,2,4,32].

Desde los primeros estudios dirigidos a la identificación y comprensión de la microbiota nuestro entendimiento de la biología humana se ha rediseñado sustancialmente. La investigación de la microbiota incrementó después de la liberación de los datos recolectados por el Proyecto de Microbioma Humano (HMP por sus siglas en inglés), el cual fue el primer proyecto a gran escala para probar la naturaleza, extensión y caracterización de las comunidades microbianas que habitan el cuerpo humano. El proyecto ha sido un esfuerzo para entender de mejor manera su rol en la salud y la enfermedad humana, provee una línea de base crítica para futuros estudios metagenómicos de la microbiota humana. El HMP fue un estudio multimillonario con varios componentes entre los cuales se encuentra la descripción de la microbiota de 18 sitios corporales en 242 humanos saludables, dichos resultados fueron publicados por Nature en 2012 [1,2,33,34].

Diferentes sitios corporales en el estudio del HMP arrojaron drásticas disimilitudes entre las comunidades microbianas en términos de diversidad y composición. La diversidad de microorganismos en un hábitat corporal se puede definir como el número y abundancia en la distribución de distintos tipos de organismos. El análisis de la diversidad microbiana del cuerpo humano es fundamental para entender la estructura, biología y ecología de esta comunidad [3].

Estudios de la microbiota humana han revelado que incluso individuos saludables difieren remarcablemente en los microorganismos que ocupan

hábitats como los intestinos, la piel o la vagina [35]. La dieta, el ambiente, la genética del hospedero y la exposición temprana a microorganismos se encuentran involucrados. El HMP halló la diversidad y abundancia de cada comunidad microbiana de cada hábitat, la cual varía ampliamente incluso entre individuos saludables, con una marcada especialización de nichos con y entre individuos [3].

Las comunidades fecales y orales resultaron las más diversas en cuanto a diferentes organismos presentes. Curiosamente, sublocaciones corporales como la piel, la boca, la vagina o los intestinos, presentaron comunidades microbianas específicas [36]. A pesar de que un individuo puede presentar una variedad de especies en su cavidad oral, todos los individuos en el HMP aparentan los mismos o similares tipos de organismos [4].

Microbiota intestinal.

En la última década un creciente número de evidencia reporta a la microbiota, principalmente la intestinal, con un rol en la patogénesis de enfermedades metabólicas como la obesidad [5, 37, 38]. La microbiota intestinal regula varios procesos fisiológicos a través de interacciones con el hospedero, como la digestión, la absorción de nutrientes, la síntesis de vitaminas y ácidos biliares, así como la modulación de la inmunidad innata y mucosa, el crecimiento epitelial, prevención en la propagación de microorganismos patogénicos, e incluso la regulación de la expresión genética del hospedero [6].

El potencial de la microbiota intestinal que contribuye a la obesidad se ha atribuido a la cosecha de energía proveniente de almidones en la dieta no digeribles (producción de ácidos grasos de cadena corta), procesos inflamatorios causados por la translocación bacteriana del LPS y la endotoxemia. Así como mecanismos hormonales (activación de los receptores de proteínas G y control del apetito del huésped) [6, 37].

Los factores genéticos y las firmas epigenéticas también juegan un papel importante en la relación entre la composición de la microbiota intestinal y la predisposición a la obesidad [6, 38].

La microbiota tiene una relación comensal con el huésped y desempeña un papel clave en la salud y las enfermedades humanas. Por lo que un equilibrio homeostático del microbioma intestinal es extremadamente beneficioso para el huésped. De hecho, algunas enfermedades van acompañadas de un cambio en la composición microbiana que causa un desequilibrio drástico entre los microorganismos beneficiosos y los potencialmente patógenos. Los ejemplos de enfermedades asociadas con alteraciones en la microbiota incluyen enfermedades autoinmunes y alérgicas, enfermedad inflamatoria intestinal y obesidad [6,39,40].

Este desequilibrio en la composición microbiana se denomina "disbiosis", que se ha definido como una alteración de la homeostasis de la microbiota causado por la alteración del equilibrio ecológico; cambios en la riqueza de genes microbianos, composición funcional y actividades metabólicas; o cambios en la distribución local. La disbiosis se ha relacionado con 3 fenómenos diferentes, que pueden ocurrir al mismo tiempo: 1) pérdida de organismos beneficiosos, 2) crecimiento excesivo de microorganismos potencialmente dañinos y 3) pérdida de la diversidad microbiana general [6, 41].

Bien es cierto, que los trabajos y proyectos enfocados en el estudio de la microbiota han aumentado, la mayoría de las publicaciones e investigaciones se enfocan en el componente bacteriano de la microbiota y sólo un pequeño número de publicaciones fija su atención a los demás componentes, como es el caso de los hongos. La micobiota es el término específico para referirse únicamente a los componentes fúngicos en la microbiota [4].

En general, los hongos constituyen un componente menor del microbioma intestinal. Análisis recientes de secuenciación metagenómica han revelado que los hongos consisten en casi el 0.1% del total de microorganismos en el intestino. Hoy en día no existe consenso en la definición de un micobioma intestinal saludable debido a una variedad de factores como la baja abundancia y diversidad de hongos en el intestino, la inestabilidad temporal de la micobiota intestinal a lo largo de los períodos de desarrollo y la alta variabilidad intervoluntaria e involuntaria del micobioma intestinal [4,42].

En términos de filos, hasta ahora, la mayoría de los estudios han sugerido que el filo *Ascomycota* es el predominante encontrado en los intestinos, seguido de los filos *Zygomycota* y *Basidiomycota* [7,8].

En el contexto del género, en una revisión de Hallen-Adams et al., (2015) identificaron posibles especies de hongos que habitan en el nicho intestinal, pertenecientes a los géneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Aspergillus*, *Saccharomyces*, *Galactomyces*, *Trichosporon* y *Cladosporium* [9].

Recientemente, Nash et al., (2017) investigaron la diversidad y composición fúngica intestinal del estudio del HMP. Secuenciaron 317 muestras fecales provenientes de 147 voluntarios, las muestras fueron analizadas mediante la secuenciación de la región ITS2 (Internal Transcribed Spacer) y el gen 18S rRNA [7].

Debido a la falta de información taxonómica en las bases de datos para la identificación de los agentes fúngicos [10,11], el estudio resultó en la clasificación de varias Unidades Taxonómicas Operacionales (OTUs, por sus siglas en inglés) fúngicas clasificados como "*Fungi sp.*" que constituyen el 17% de los OTUs totales. 701 OTUs fúngicos se detectaron, capturando 247 géneros. En cuanto al número de OTUs entre comunidades bacterianas y fúngicas, observaron una significativa diferencia. Lo que apoya previos estudios que sugieren que la diversidad fúngica intestinal es menor a la bacteriana en intestinos humanos saludables [7].

Las muestras consistieron principalmente de hongos pertenecientes a los filos *Ascomycota* y *Basidiomycota*, siendo el filo *Ascomycota* el más abundante. La dominancia de este filo también se ha reportado en otros sitios del cuerpo humano, incluyendo la piel, vagina y la cavidad oral. Lo que sugiere que este filo es muy adecuado para la vida en hospederos mamíferos [7].

Los autores informaron que la microbiota intestinal está dominada principalmente por *Malassezia*, *Candida* y *Saccharomyces*, con *S. cerevisiae*, *M. restricta* y *C. albicans* identificadas en el 96.8%, 88.3% y 80.8% de las muestras, respectivamente. Las levaduras (grupo al que pertenecen estas 3 especies) se ubicaron en 8 de los 15 géneros más abundantes en las muestras [7].

Comparado a comunidades bacterianas, la microbiota intestinal es baja en diversidad y dominada por levaduras. Diversas especies fúngicas persistieron a través de la mayoría de las muestras, evidenciando que puede existir una microbiota intestinal principal y constante [7].

Hoffmann et al., (2013) llevaron a cabo una investigación sobre el vínculo entre la dieta y la microbiota fúngica. En el estudio, los autores identificaron 66 géneros de hongos, siendo *Candida*, *Cladosporium* y *Saccharomyces* los géneros identificados más comunes. Los autores especulan que la alta prevalencia de *Saccharomyces* podría deberse al consumo de alimentos que contienen levadura como la cerveza y el pan, mientras que el alto nivel de *Candida* se correlacionó fuertemente con el consumo de carbohidratos [8].

Micobiota Oral.

El microbioma oral es definido como "todos los microorganismos que se encuentran en la cavidad bucal humana y sus extensiones contiguas". Sin embargo, la mayoría de las investigaciones acerca del microbioma oral se enfocan sólo en bacterias, con más de 700 taxones bacterianos que se sabe que están presentes en la cavidad bucal de humanos. Actualmente, se sabe poco sobre la contribución de los hongos en el microbioma oral y su papel en la salud bucal [12, 43, 44].

El concepto de "microbioma oral sano central" fue introducido por Ghannoum et al., (2010) cuando caracterizaron el microbioma oral de 20 adultos sanos [13]. Ellos identificaron un total de 85 géneros de hongos dentro de la cavidad oral, 11 de los cuales están relacionados con géneros de hongos no cultivables. Aunque el número exacto de géneros de hongos en la cavidad bucal varió entre los participantes (rango 5-39), se identificó un conjunto básico de géneros en la cavidad bucal de más del 20 por ciento de los participantes del estudio: *Candida* (75%); *Cladosporium* (60%); *Aureobasidium* (50%); *Aspergillus* (35%); *Fusarium* (30%) y *Cryptococcus* (20%) [14]. La alta prevalencia de *Candida* en la cavidad oral es consistente con estudios previos basados en cultivos, y posteriores estudios moleculares que confirmaron la alta prevalencia de *Candida*

spp. dentro de la cavidad bucal, con *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* y *Candida dubliniensis* como las más abundantes [15,16].

Peters et al., (2017) caracterizaron el microbioma oral de 15 adultos con enfermedad periodontal y 15 adultos con salud bucal, usando la secuenciación del gen ITS provenientes de muestras de lavado oral. Observaron entre todas las muestras al menos 5 filos (*Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Glomeromycota*, *Chytridiomycota* y no clasificados), 81 géneros, 154 especies y 8943 OTUs. La mayoría de las secuencias leídas de las muestras pertenecen al filo *Ascomycota* (86.5%). El número de OTUs por participante fue entre 77 y 2262. El cual tendió a ser mayor en el grupo de enfermedad periodontal que en el grupo de salud bucal; sin embargo, estos índices de diversidad no difirieron significativamente entre los dos grupos. Mientras que no se observó diferencia significativa, hallaron 33 OTUs que fueron abundantemente diferentes entre los dos grupos: 14 de *Aspergillus niger*, tres de *Candida albicans* y 14 de *Candida sp.* No observaron ningún patrón de diferencia de grupo para las OTUs de *Aspergillus niger* o *Candida albicans*, aunque las OTUs de *Candida sp.* tuvieron mayor abundancia relativa en participantes con enfermedad periodontal que en participantes con salud bucal [15].

Candida y *Aspergillus* fueron los más frecuentemente observados, aislados en el 100% de los participantes, seguidos por *Penicillium* (97%), *Schizophyllum* (93%), *Rhodotorula* (90%) y *Gibberella* (83%). A nivel de especies, sólo 3 se observaron en los 30 participantes. *Dikarya* (no cultivable), *Candida sp.* y *Aspergillus niger*, todos los participantes presentaron hongos no identificados [15].

El grupo de investigación de Peters et al., (2017) observó que el género *Candida* presentó mayor abundancia en los participantes con enfermedad periodontal a diferencia de aquellos con salud bucal, a pesar de que dicha diferencia no fue significativa. Lo mismo fue observado a nivel de especies en *Candida*. No hallaron una diferencia significativa en la diversidad o la composición entre participantes con enfermedad periodontal y los participantes con salud bucal.

Ghannoum et al., (2010) reportó 85 géneros y 101 especies provenientes de muestras de enjuague bucal de 20 individuos sanos, usando secuenciación ITS [6]. Peters et al., (2017) hallaron un número similar de género y especie en sus muestras (81 y 154 respectivamente) [15].

Ambos estudios hallaron géneros similares, aunque a diferentes frecuencias. Peters et al., 2017 observaron la presencia de *Candida* y *Aspergillus* en el 100% de los participantes, y el grupo de Ghannoum (2010) observó un 75% y un 35% respectivamente. Sin embargo, ambos estudios varían a nivel de especies, donde la especie más observada por Peters et al., (2017) (*Aspergillus niger*) no fue observada en absoluto por el grupo de Ghannoum [14,15].

Dupuy et al., (2014) caracterizó el microbioma oral proveniente de muestras de saliva de seis individuos usando secuenciación ITS y observó una alta frecuencia del género *Malassezia* (100%), así como una alta frecuencia de *Candida*, *Aspergillus* y otros [16].

El grupo de Ghannoum (2010) realizó un análisis de la distribución de las especies, el análisis halló 12 géneros de hongos los cuales fueron representados por dos o más especies por género. El número más alto de especies fue detectado para *Aspergillus* (6 especies), seguida de *Candida* (5) *Cladosporium* (4), *Fusarium* (3), y *Penicillium* (3). *Candida albicans* fue identificado en el 40% de los participantes, seguido por *C. parapsilosis* (15%), *C. tropicalis* (15%), *C. khmerensis* y *C. metapsilosis* (5% de los sujetos) [14].

Benedetti et al., (2016) evaluaron la diversidad genética de especies de *Candida sp*, en un grupo control de 89 individuos, crecimiento fue observado en 33 de las muestras (37.08%). El mayor número de aislamiento lo encontraron en *Candida albicans* (26), seguido de *C. parapsilosis* (6), *C. glabrata* (3), *C. dubliniensis* (3) y *C. tropicalis* (1) [25].

Con pocos estudios del microbioma oral, es complicado señalar la razón por la que existen tales diferencias entre los estudios. Entre las posibles razones se incluyen diferencias geográficas de residencia, diferencias entre raza/etnicidad y diferencias en la metodología de estudio.

Antecedentes específicos

Las levaduras son parte de la microbiota intestinal normal, pero los recuentos de células normalmente no superan las 10 unidades formadoras de colonias (UFC/g) de heces. Sin embargo, se ha descrito que *Candida sp.* está más extendido en las heces de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 1 y tipo 2 con mal control glucémico que en sujetos sanos. Las principales razones de esta colonización parecen ser funciones alteradas del sistema inmunológico en pacientes diabéticos con mal control glucémico o un efecto directo de niveles elevados de glucosa en sangre, creando condiciones específicas para una colonización fúngica intensiva. Se mostró que en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 1, las UFC intestinales totales aumentan significativamente hasta un 40% en la colonización por *C. albicans* en comparación con el 14,3% en individuos sanos. Esto puede estar relacionado con la disminución de bacterias comensales, probablemente del resultado de la competencia entre levaduras y bacterias [17].

En nuestro grupo de trabajo, López en 2018, realizó un estudio en donde aisló y caracterizó muestras orales y fecales provenientes de un grupo diabético (31 individuos) y un grupo control (15 individuos) de adultos residentes del estado de Puebla, con la finalidad de hallar especies del género *Candida*. Registró un mayor número de aislamientos de las muestras orales en el grupo diabético (67.74%), a diferencia del grupo control en donde aisló positivamente en el 53.3% de los individuos [18]. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización de especies de *Candida* en las muestras orales y fecales de individuos control e individuos diabéticos.

	Oral Diabético	Oral Control	Fecal Diabético	Fecal Control
<i>C.albicans</i>	59.23%	62.5%	22.72%	13.33%
<i>C. glabrata</i>	18.5%	0%	22.72%	33.33%
<i>C. dubliniensis</i>	7.4%	12.5%	4.54%	0%
<i>C. krusei</i>	3.7%	0%	27.27%	13.33%
<i>C. tropicalis</i>	0%	0%	4.54%	0%
<i>C. zeylanoides</i>	0%	0%	0%	6.66%
<i>Candida sp.</i>	11.11%	25%	18.18%	33.33%

Fuente: [18]

López en 2018, reportó un mayor número de especies en las muestras tanto orales como fecales del grupo diabético a diferencia del grupo control. En ambos grupos la especie prevalente en muestras orales fue *C. albicans*. A diferencia de las muestras fecales en donde reporta a *C. krusei* como la más abundante en el grupo diabético y a *C. glabrata* en el grupo control [18].

En cuanto a los datos reportados de las muestras fecales, López (2018) obtuvo un 70.96% de aislamientos de *Candida* en los individuos diabéticos, comparado con un 80% de aislamientos del grupo control. Aisló al igual que las muestras orales un mayor número de especies en las muestras fecales provenientes del grupo diabético, a diferencia del grupo control. Las especies *C. tropicalis* y *C. zeylanoides* únicamente se observaron en las muestras fecales [18].

El estudio indica que el grupo de individuos diabéticos es más susceptible a ser portador del género *Candida* y a presentar elevados números de UFC tanto en la cavidad oral como en el tracto intestinal [8].

Halló que los elevados niveles de glucosa en sangre, la disminución del pH salival y el sobrepeso, se relacionan significativamente con el aumento en el número de UFC, indicando su implicación en la sobre colonización del género *Candida* en adultos diabéticos [18]

Mar Rodríguez et al., (2015) investigaron el papel del microbioma intestinal en la obesidad y concluyeron que, a pesar de no haber una diferencia significativa en la riqueza del microbioma entre los obesos e individuos no obesos, la composición específica del microbioma podría distinguir entre individuos obesos y no obesos. El microbioma obeso, fue predominante por *Candida*, *Nakaeseomyces*, *Penicillium* y *Pichia*, mientras que en el microbioma no obeso *Mucor*, *Candida* y *Penicillium* fueron los más prevalentes. Curiosamente, los autores demostraron que el género *Mucor* correlacionó negativamente con marcadores metabólicos de obesidad (triglicéridos en ayunas, lipoproteínas de baja densidad (LDL), índice de masa corporal (IMC) y colesterol), mientras que el género *Penicillium* y la familia *Aspergillaceae* se correlacionaron positivamente con lipoproteínas de alta densidad (HDL) [19].

Justificación

México se encuentra en un proceso de transición donde la población experimenta un aumento considerable en el Índice de Masa Corporal (IMC) que afecta a personas de todas las edades. La prevalencia de sobrepeso y obesidad en México es de las más altas en el mundo, donde 7 de cada 10 personas lo presentan. Múltiples publicaciones plantean el papel de la microbiota en el desarrollo de la obesidad, surgiendo de observaciones donde individuos obesos presentan una microbiota distinta a aquellos con normopeso, esto se puede explicar debido al papel que los microorganismos juegan en la extracción de energía de los alimentos, metabolismo de los ácidos grasos y regulación de los depósitos corporales de tejido adiposo.

Los hongos son parte sustancial de la microbiota por lo que estudiar específicamente su relación con el IMC nos acercará a un mayor conocimiento sobre este desorden metabólico.

Planteamiento del problema

Entre 1975 y 2016 la prevalencia mundial de la obesidad se ha casi triplicado en todo el mundo, la OMS (Organización Mundial de la Salud) estima que, en 2016, más de 1900 millones de adultos de 18 o más años tenían sobrepeso, de los cuales, más de 650 millones eran obesos. Correspondiente a un 13% de la población adulta mundial. México no es la excepción, ya que es de los países con los IMC más altos a nivel mundial.

A nivel nacional, la ENSANUT (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición) en 2020 publicó el porcentaje de adultos de 20 años o más con sobrepeso y obesidad en México, la cual era del 74.1% (38.1% sobrepeso y 36% obesidad), porcentaje que en 2012 fue de 71.3% y se estima que los números se mantendrán en aumento en los próximos años.

Por lo que se ha extendido la necesidad a nivel mundial de investigar las causas y consecuencias que el sobrepeso y la obesidad generan en la población. Un IMC elevado es un importante factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares, diabetes, trastornos del aparato locomotor y algunos cánceres. Un aumento en la ingesta de alimentos de alto contenido calórico y ricos en grasas, aunado al descenso en la actividad física de las personas debido a las formas de trabajo, modos de transporte y la creciente urbanización que facilitan las actividades sedentarias, son los principales factores en la presencia del sobrepeso y la obesidad.

Sin embargo, no son las únicas consideraciones. En la última década, diversa evidencia sugiere que la microbiota repercute en el desarrollo de la obesidad. Se ha reportado que la composición de la microbiota difiere entre sujetos con un peso normal a diferencia de aquellos que presentan sobrepeso u obesidad. Lo que sugiere que la microbiota puede ser un factor crucial en la regulación de la homeostasis, repercutiendo directamente en la cosecha de energía y el metabolismo.

A su vez, sectores específicos de la microbiota como lo son sus componentes fúngicos (micobiota), que a pesar de ser menos estudiados son parte fundamental en los procesos metabólicos que la microbiota ejerce. El género *Candida* es uno de

los principales agentes fúngicos aislados en los estudios de microbiota oral e intestinal, se ha asociado su presencia a dietas con alto contenido de grasas y carbohidratos y se ha sugerido una conexión entre *Candida spp.* y diabetes y los desórdenes inflamatorios del tracto gastrointestinal.

Un estudio profundo de la micobiota y *Candida spp.*, de sus funciones, interacciones y composiciones pueden ser un vehículo de ayuda para el entendimiento del sobrepeso y la obesidad. Conocer sus causas, consecuencias y sus interacciones en el cuerpo humano, permite y facilita la elaboración de mejores estrategias para combatir los efectos negativos de un IMC elevado.

Hipótesis Científica

La presencia y el aislamiento de cepas del género *Candida* provenientes de muestras orales e intestinales está relacionada con el Índice de Masa Corporal en individuos universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla.

Objetivos

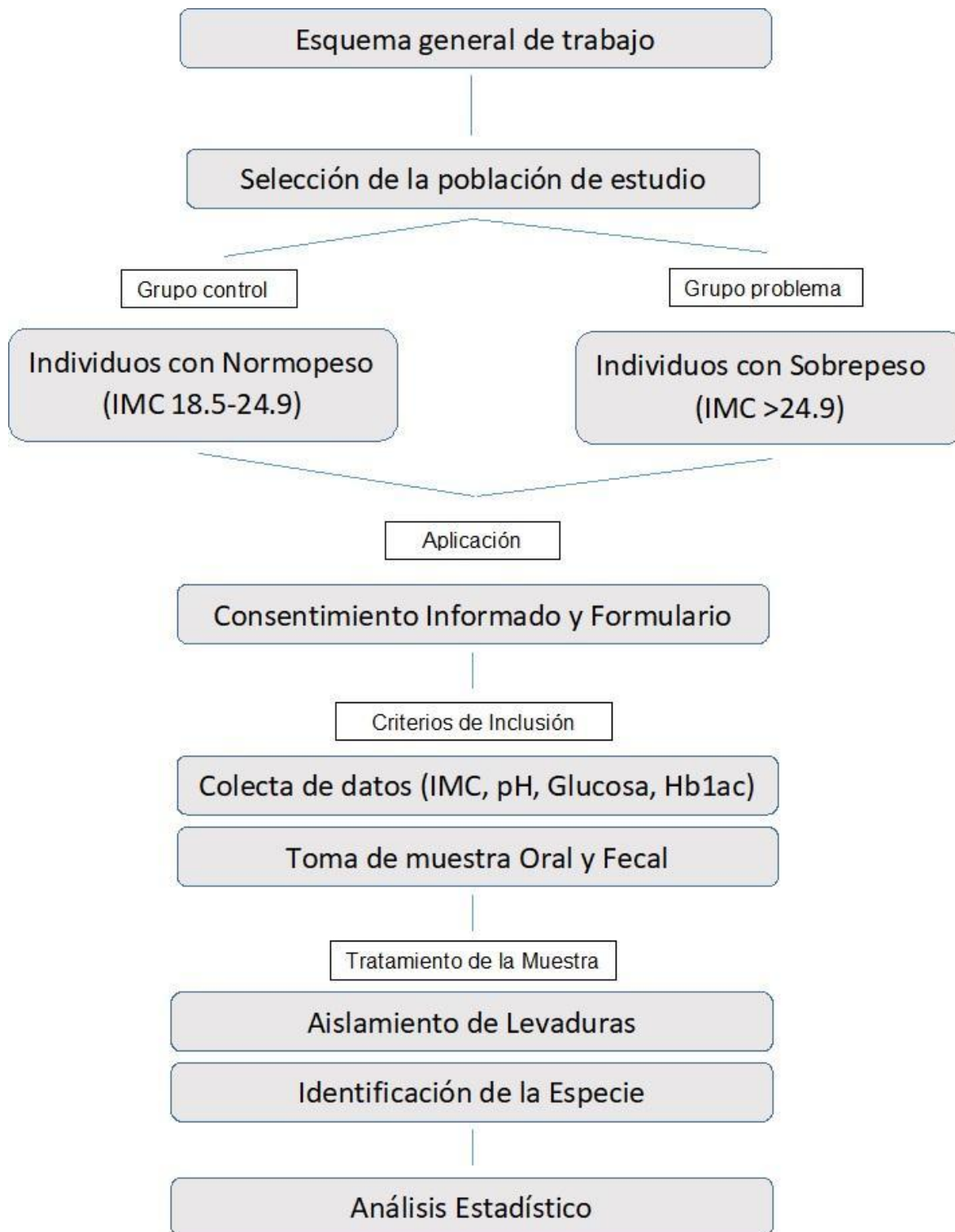
Objetivo General

Relacionar la prevalencia de especies del género *Candida* con el Índice de Masa Corporal de individuos universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla.

Objetivos Particulares

Aislar e identificar las especies del género *Candida* en muestras orales y fecales de individuos universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con normopeso y sobrepeso.

Estrategia de trabajo



Material y métodos

Diseño del estudio

Las muestras fueron tomadas a conveniencia del investigador, debido a las restricciones de edad (18-33 años) y geografía (ciudad de Puebla, Puebla) y de acuerdo a los sujetos que entraron al estudio y la obtención de las muestras.

Muestreo

Definición de la unidad de población

Población mayor a 18 años que al momento de la toma de la muestra se encuentre cursando escolaridad de nivel universitario en la ciudad de Puebla, Puebla.

Selección de la muestra

Muestras orales y fecales de los individuos que cumplan con los requisitos de inclusión y exclusión.

Criterios de selección de las unidades de muestreo

Criterios de inclusión

- Individuos mayores de 18 años que al momento de la toma de la muestra cursen escolaridad a nivel universitario en la ciudad de Puebla, Puebla.
- Individuos que no se encuentren en tratamiento médico.
- Individuos que firmaron y aceptaron el consentimiento informado.
- Individuos que proporcionaron los datos generales, con un tiempo no mayor a 3 meses después o antes de la toma de la muestra oral y fecal.

Criterios de exclusión

- Individuos que no cumplieron con las muestras requeridas o no proporcionaron los datos generales.
- Individuos que no aceptaron firmar el consentimiento informado.
- Individuos que no cumplan con los criterios de inclusión.

Criterios de eliminación

- Individuos que informaron a destiempo algún tipo de tratamiento que interfiera con el crecimiento de las levaduras.
- Individuos cuya muestra se contaminó.
- Individuos a los que no se obtuvo alguna muestra.

Diseño y tipo de muestreo

Muestreo probabilístico aleatorio estratificado, a conveniencia del investigador.

Tamaño de la muestra

- Definición de las variables y escalas de medición

Tabla 2. Variables y Escalas de Medición.

Variable	Tipo de Variable	Escala de medición
Género	Discreta	Masculino-Femenino
Edad	Continua	18-33
pH	Continua	0-14

IMC	Continua	Bp, Np, Sp, O
HbGliA1C%	Continua	HbA1c (%)
Glucosa	Continua	mg/dl
Aislamiento	Continua	Positivo-Negativo

Bp- Bajopeso Np- Normopeso Sp- Sobrepeso O-Obesidad

HbA1c – Hemoglobina glicosilada

Método de recolección de datos

Recolección de muestras

Muestra oral: para su recolección se utilizó el método de enjuague oral (técnica no invasiva y ampliamente utilizada), a cada individuo se le entregó un recipiente estéril con 10 ml de buffer fosfato salino (PBS; pH 7.4, 0.1 M), con el que se enjuagó la boca durante 1 minuto y se les pidió que regresen la solución al recipiente (esto para recolectar la saliva), previamente se aclaró que el procedimiento es sin lavado previo de dientes

Muestra fecal: se recolectó por los participantes en un recipiente estéril y de la primera evacuación del día. Antes de iniciar con la toma de muestra se midió el pH salival (kit de tiras indicadoras de pH MColorpH) y el nivel de glucosa en sangre (mg/dl) (glucómetro de la marca One Touch, con sus respectivas tiras reactivas).

En cuanto a la prueba de hemoglobina glicosilada, todos los participantes fueron informados para asistir al laboratorio de análisis clínicos. El cual fue a gusto del participante.

Técnicas y procedimientos

Transporte y tratamiento de la muestra

Las muestras fueron transportadas al laboratorio para iniciar con su tratamiento, las

muestras fecales se mantuvieron a 4°C, mientras que las orales a temperatura ambiente.

Para el aislamiento se utilizó el medio selectivo CHROM agar *Candida*®, es un medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento e identificación de *Candida* y sus especies: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata* y *C. dubliniensis*, fabricado a base de una mezcla cromógena patentada, está formada por sustratos artificiales (cromógenos), que liberan compuestos de diferentes colores al ser degradados por enzimas específicas. De esta manera es posible la diferenciación de determinadas especies de *Candida*.

Tratamiento de las muestras orales: El material (enjuague oral) se centrifugó a 3500 rpm durante 10 minutos, se desechó el sobrenadante para obtener la pastilla de células, el pellet se resuspendió en 1ml de PBS (Buffer Fosfato Salino, pH 7.4, 0.1 M). Para la siembra se tomaron 500µL de la solución concentrada para sembrarla en una placa de medio selectivo para *Candida* CHROM agar *Candida*® (sembrado masivo), se incubó a 37°C durante 48 horas para el aislamiento de las colonias fúngicas.

Tratamiento de las muestras fecales: El sembrado de estas muestras es directo, con un hisopo estéril, se tomó una porción de la muestra equivalente a ≈1g y se sembró directamente en una placa de medio selectivo CHROM agar *Candida*®, se incubó a 37°C durante 48 horas para el aislamiento de las colonias fúngicas.

Aislamiento de colonias fúngicas de muestras orales y fecales

Después del periodo de incubación (48 hrs a 37°C) se descartaron todas aquellas muestras con ausencia de levaduras y se seleccionaron aquellas muestras que presentaron colonias con características típicas de *Candida* en CHROM agar *Candida*®: consistencia cremosa, coloración verde, azul, violeta, rosa, crema, blanco.

Para el aislamiento de las colonias se usaron palillos de madera estériles y se tomó una pequeña muestra de cada colonia para resembrarse por estría en cola de pez en otra placa de medio CHROM agar *Candida*®, se incubó a 37°C durante 48 hrs;

una vez transcurrido este tiempo se inició con la identificación y descripción de las colonias.

Pruebas de identificación para levaduras del género *Candida*.

Una vez obtenidos los cultivos axénicos, se llevó a cabo la descripción y las pruebas de identificación, tomando en cuenta criterios morfológicos y bioquímicos. Criterios morfológicos macroscópicos (crecimiento en diferentes medios de cultivo) y microscópicos como: formación de tubo germinal o filamentación precoz y observación microscópica en fresco y utilizando azul de algodón. Criterios bioquímicos enzimáticos (crecimiento en CHROMagar *Candida*®) y de asimilación de carbohidratos (Auxanograma de carbonos). Utilizando como testigo la cepa ATCC 10231 *C. albicans*).

Descripción de morfología colonial: crecimiento de las cepas en Agar Dextrosa Sabouraud (ADS), la siembra se realizó en una placa con 10 ml de medio, por estría cruzada y se incubó a 37° por 48 hrs, se tomó en cuenta la textura (cremosa, lisa, seca, rugosa), bordes, tamaño (colonias pequeñas o grandes). Se registraron características de las colonias como: tamaño, bordes, consistencia y color.

Microscopia: Observación en fresco, se describió forma, tamaño, gemación, presencia de hifas o pseudohifas. Para esto se tomó una pequeña muestra y se disolvió en una gota de agua, se observó con el microscopio óptico con objetivo de 40x. Se registraron las características.

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

Es una prueba para discriminar entre especies *albicans* y no *albicans*, se tomó un cultivo de 24-48 hrs de crecimiento en ADS, la prueba consistió en emulsionar una pequeña muestra de la colonia en 0.5 ml de suero humano, se incubó a 35° durante 2 hrs, transcurrido el tiempo, se observó una gota de la emulsión con un microscopio óptico a 40x, se detectaron células con presencia de tubos germinales correspondientes a *C. albicans*.

Termotolerancia: Prueba para discriminar entre especies *C. albicans* y *C. dublinensis*, se partió de un cultivo nuevo de 24 a 48 hrs, el cual se resembró por duplicado en 5 ml de ADS en pico de flauta, (como testigo se usó la cepa ATCC 10231 *C. albicans*), el tubo se incubó a 37° C (control) y el otro se sometió a termotolerancia a 45° C, ambos durante 48 hrs. En su lectura, se detectó crecimiento favorable a 45°C, indicando la presencia de *C. albicans*.

Crecimiento en el medio CHROM agar Candida®: se basó en la detección de determinadas actividades enzimáticas por parte de las levaduras mediante la hidrólisis específica de un sustrato cromogénico (mezcla cromógena patentada) en presencia de un indicador de la enzima.

Las levaduras tomaron un color específico de acuerdo con la especie a la que pertenecen (verde esmeralda, verde militar, violeta, rosa, azul metálico, blanco, brillante u opaco), además de características como el borde y forma de la colonia (continuo, dentado, o si las colonias son abultadas o planas), la textura (cremosa y lisa, seca, rugosa o polvosa).

La siembra se realizó por estría cruzada o en cola de pez en una placa de medio CHROM agar Candida® de 20 ml, se incubó a 37° por 48 horas, la lectura se realizó a partir de los colores observados en las colonias.

Análisis de datos

Se llevó a cabo usando el programa IBM SPSS Statistics Base versión 25 para realizar la captura y el análisis de datos.

Diseño estadístico

Hipótesis estadística

Ho, no hay relación entre el IMC y la presencia de especies de *Candida* en muestras oral y fecal.

H1, si hay relación entre el IMC y la presencia de especies de *Candida* en muestras oral y fecal.

Resultados

1. Características generales de los grupos de estudio

Se estudiaron un total de 56 individuos, de los cuales 37 presentaron Normopeso (18.5- 24.9 IMC), 13 sobrepeso (25- 29.9 IMC) y 6 obesidad (30- 39.9 IMC). Se recolectó de cada individuo una muestra oral y una muestra fecal. Se obtuvo un promedio de edad de 19 años en todos los grupos de estudio.

Con la finalidad de observar las diferencias entre los grupos y los posibles parámetros que pueden tener relación con la prevalencia de *Candida*, se obtuvo el valor promedio de Hemoglobina (HB) glucosilada de todos los grupos, los cuales todos se mantuvieron dentro de los valores recomendados (4.8-5.9%). Sin embargo, los valores fueron mayores en los individuos con Obesidad, seguido de aquellos con Sobrepeso. Los individuos con Normopeso presentaron los valores más bajos de Hemoglobina glucosilada entre los grupos. Se halló una diferencia estadísticamente significativa, lo que sugiere que la HB glucosilada puede ser un factor determinante en cuanto a la prevalencia de *Candida* en individuos universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla.

En cuanto a los valores de pH, todos los grupos presentaron números similares. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio, sugiriendo que no es un factor determinante en cuanto a la prevalencia de *Candida* en las muestras orales de los individuos de este estudio.

En lo que concierne a los valores de glucosa, todos los grupos de estudio se mantuvieron dentro del rango promedio (valores normales en ayunas de 72–99 mg/dL). El grupo de Normopeso presentó los valores más bajos, y el grupo de Sobrepeso el más alto, aunque no muy alejado de los valores del grupo con Obesidad. Se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, lo que sugiere que la glucosa puede ser un factor determinante en cuanto a la prevalencia de *Candida* en individuos universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla. (Tabla 3)

Tabla 3. Características de los grupos de estudio.

	Normopeso	Sobrepeso	Obesidad	Total	Valor p**
Femenino: Masculino (n)	30:7 (37)	9:4 (13)	3:3 (6)	42:14 (56)	n/a
Edad (años)	19.76± 2.900	19.31± 1.316	19.67± 1.633	19.64± 2.482	n/a
IMC (kg/m ²) (n)	21.6057± 2.0264 (37)	27.2854± 1.5982* (13)	35.2017± 3.7579* (6)	24.3809± 4.9474* (56)	0.000
HB Glucosilada (%) (n)	5.0730± 0.2589 (37)	5.2462± 0.4683 (13)	5.4667± 0.2875 (6)	5.1554± 0.3410 (56)	0.004
pH (n)	6.74± 0.475 (29)	6.60± 0.568 (10)	6.83 ±0.408 (6)	6.72± 0.483 (45)	0.963
Glucosa (mg/dl) (n)	84.067± 9.9155+ (15)	96.425± 11.9159+ (4)	94.450± 6.4347+ (2)	87.410± 11.0356+ (21)	0.049

Muestra las características generales de los grupos de estudio (Datos estimados en Media+ Desviación estándar)

(n): Número de individuos que se incluyen en la medición

*: IMC: Normopeso 18.5 - 24.9, Sobrepeso 25 - 29.9, Obesidad ≥ 30. (Clasificación de la OMS).

** : Comparación estadística entre grupos (p< 0.05)

n/a: No aplica

2. Presencia del género *Candida* y especies prevalentes en los grupos de estudio.

De los 56 individuos en el estudio, se obtuvieron 56 muestras orales y 56 muestras fecales (1 oral y 1 fecal por cada individuo).

En las muestras orales: 18/56 mostraron crecimiento del género *Candida* (32.14%). De las cuales en los individuos con Normopeso, 12/37 presentaron crecimiento (32.43%). En los individuos con Sobrepeso, 4/13 presentaron crecimiento (30.77%) y en los individuos con Obesidad, 2/6 mostraron crecimiento (33.33%). Como se puede observar en el Gráfico 1.

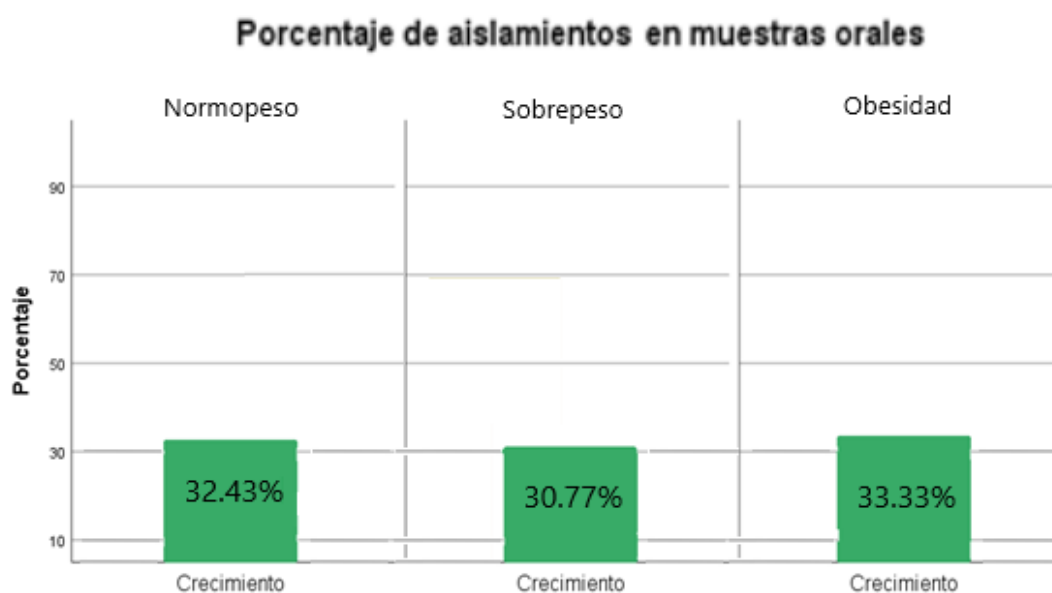


Gráfico 1: Porcentaje de aislamientos con crecimiento en muestras orales del género *Candida* en jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Normopeso, Sobrepeso y Obesidad.

En las muestras fecales: 31/56 presentaron crecimiento del género *Candida* (55.35%). De las cuales, 16/37 presentaron crecimiento (43.24%) en los individuos con Normopeso. En los individuos con Sobrepeso, 11/13 muestras presentaron crecimiento (84.62%) y para los individuos con Obesidad, 4/6 mostraron crecimiento (66.67%). Como se puede observar en el Gráfico 2.

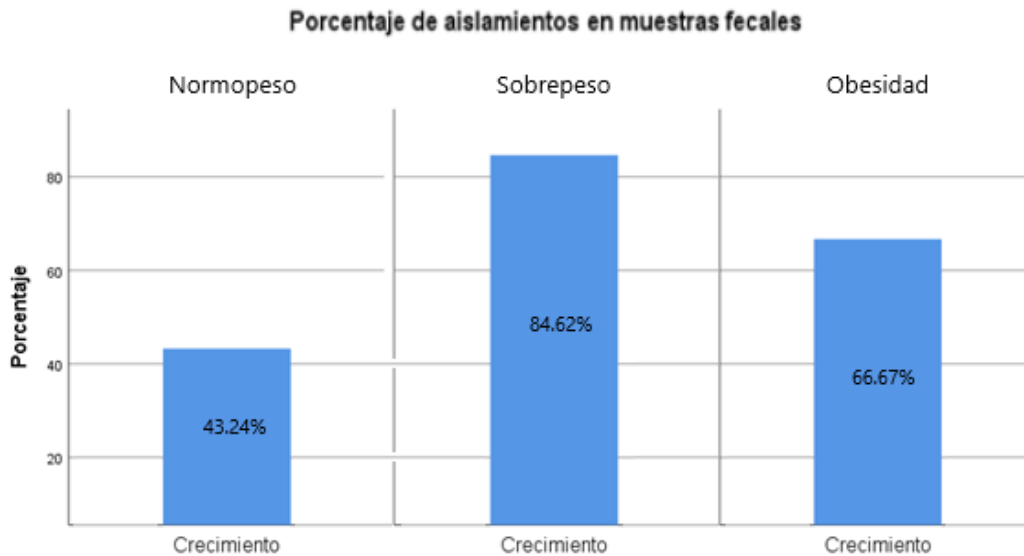


Gráfico 2: Porcentaje de aislamientos con crecimiento en muestras fecales del género *Candida* en jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Normopeso, Sobrepeso y Obesidad.

Con la finalidad de observar las especies presentes en las muestras orales y fecales, considerando el IMC de los individuos, se desarrollaron los siguientes gráficos (gráfico 3, gráfico 4). En ellos se indica el recuento de aislamientos de cada especie de *Candida* por grupo de estudio (Normopeso, Sobrepeso y Obesidad).

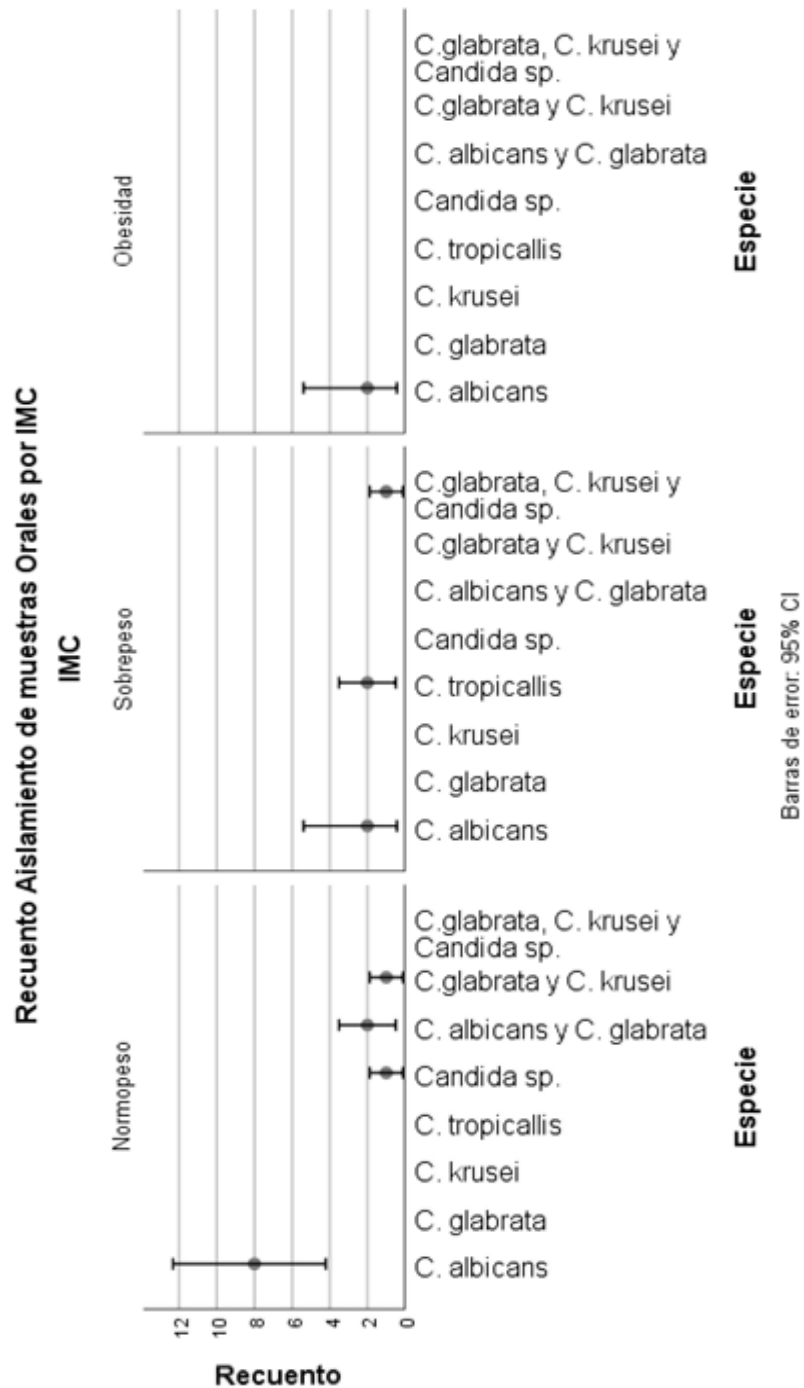


Gráfico 3: Se presenta el recuento total de aislamientos de las diferentes especies del género *Candida* a partir de muestras orales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla, con Normopeso, Sobrepeso u Obesidad.

En cuanto a las muestras orales, es notable la presencia de *C. albicans* en todos los grupos, mostrando una mayor presencia en el grupo con Normopeso. La especie *albicans*, fue la única que se halló en el grupo con Obesidad. A diferencia de los grupos con Normopeso o Sobrepeso en los que se caracterizaron muestras con otras especies de *Candida*, como es el caso particular de *C. tropicalis* en las muestras con Sobrepeso, único grupo en el que se caracterizó la especie.

Así mismo, se puede observar la presencia de muestras con cultivos mixtos, en donde se caracterizó más de una especie en una muestra, llama a la atención la presencia de *C. glabrata* y de *C. krusei*. en muestras orales, ya que se hallaron únicamente en conjunción con otra especie. Estos cultivos mixtos, son más frecuentes en los individuos con Normopeso, a diferencia del grupo con Sobrepeso, en donde se observa solo un cultivo mixto y con el grupo de Obesidad, en donde no se observa ninguno.

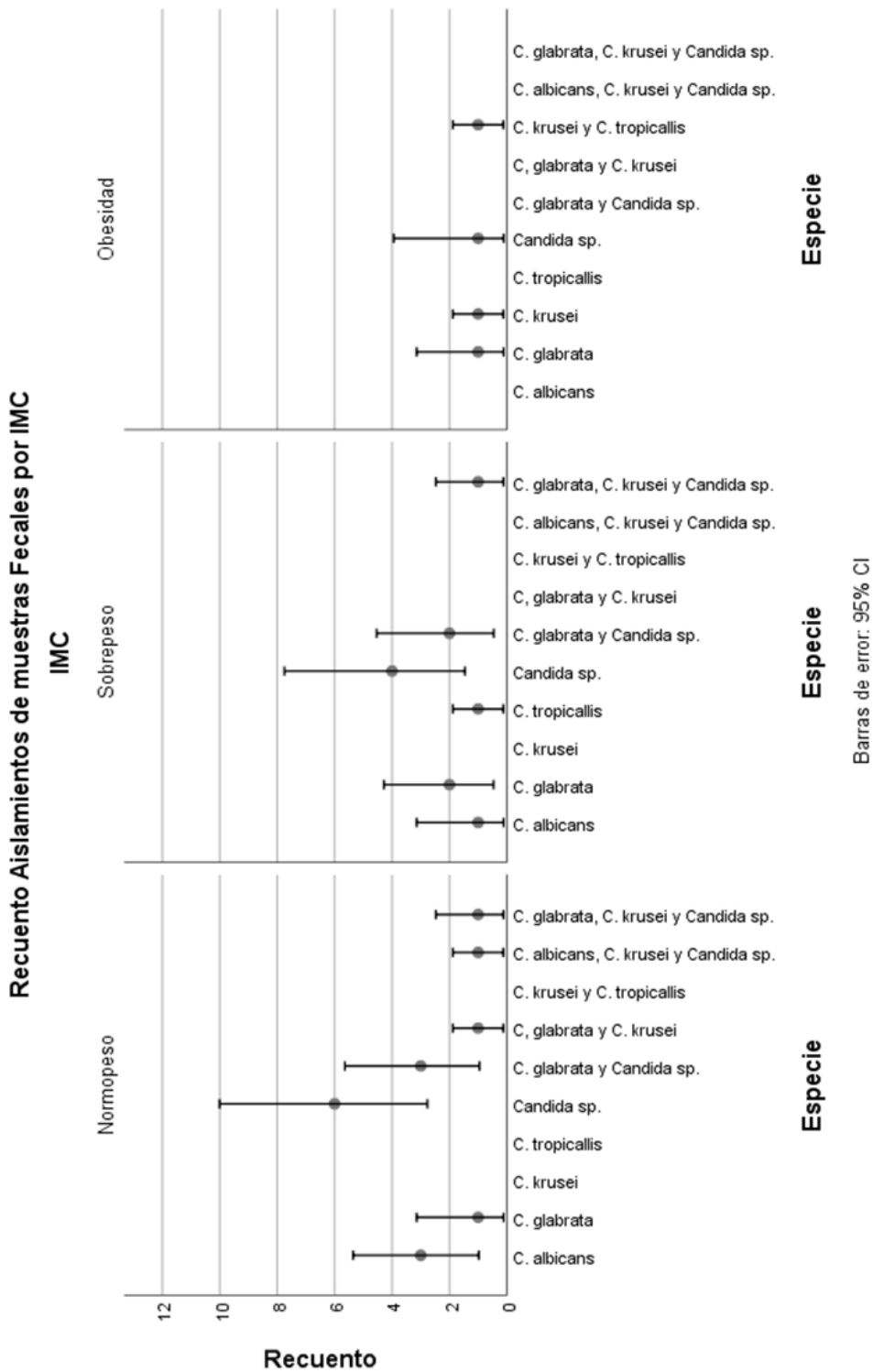


Gráfico 4: Presenta el recuento total de aislamientos de las diferentes especies del género *Candida* a partir de muestras fecales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Normopeso, Sobrepeso y Obesidad.

En la caracterización de las muestras fecales, se puede observar únicamente la presencia de *C. albicans* en los grupos con Normopeso y Sobrepeso, Sin embargo, no es la especie mayoritaria. En todos los grupos esta especie es *Candida sp.* Destaca la presencia de *C. glabrata* en todos los grupos, esta se presenta tanto en un cultivo individual como en uno mixto. Así mismo, *C. tropicallis* solo se observa en los grupos con Sobrepeso, en donde su presencia es en un cultivo individual, también se observó en el grupo con Obesidad, pero en un cultivo mixto junto con *C. krusei*. El grupo con Obesidad es el único en donde se reporta un caso de *C. krusei* en un cultivo individual.

En cuanto a los cultivos mixtos de las muestras fecales, estos se observan en todos los grupos. Sin embargo, el grupo con mayor presencia de cultivos mixtos es el de Normopeso, en donde destaca la alta presencia de *C. krusei*, que solo se observa en conjunción con otra especie. Seguido del grupo con Sobrepeso en cuanto a la presencia de cultivos mixtos, en el grupo con Obesidad solo se observó un cultivo mixto.

3. Evaluación de la colonización por *Candida* en los grupos de estudio.

Para determinar la colonización por *Candida* y saber si existen diferencias entre los grupos de estudio, se hizo el conteo de las UFC en las muestras orales y fecales, seguido de una prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas. La prueba de Wilcoxon permite comparar el rango medio de dos muestras relacionadas y determinar si existen diferencias entre ellas.

3.1 Comparación de la media de UFC/ml entre grupos de las muestras orales.

En las muestras orales de los individuos control (Normopeso) se obtuvo una media de 18 ± 50.606 UFC/ml, comparado con 2.08 ± 3.752 UFC/ml de los individuos con

Sobrepeso y 5.67 ± 9.832 UFC/ml de los individuos con Obesidad. Obteniendo diferencias significativas en ambos grupos (0.010). (Gráfico 5, Gráfico 6, Gráfico 7)

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La mediana de las diferencias entre UFC Oral Normopeso y UFC Oral Sobrepeso es igual a 0.	Prueba de rangos con signo de Wilcoxon para muestras relacionadas	.010	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de .05.

Gráfico 5: Muestra los resultados de la Prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas, comparación de UFC/ml en muestras orales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Normopeso y Sobrepeso.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La mediana de las diferencias entre UFC Oral Normopeso y UFC Oral Obesidad es igual a 0.	Prueba de rangos con signo de Wilcoxon para muestras relacionadas	.010	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de .05.

Gráfico 6: Muestra los resultados de la Prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas, comparación de UFC/ml en muestras orales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Normopeso y Obesidad.

Al comparar mediante una prueba de Wilcoxon la media de UFC/ml en muestras orales del grupo Normopeso con el de Sobrepeso, y el grupo Normopeso con el de Obesidad, en ambas comparaciones se hallaron diferencias significativas. La diferencia sugiere que los individuos con un IMC en Normopeso, presentan una mayor media de UFC/ml en comparación con los otros grupos, en donde la media es menor.

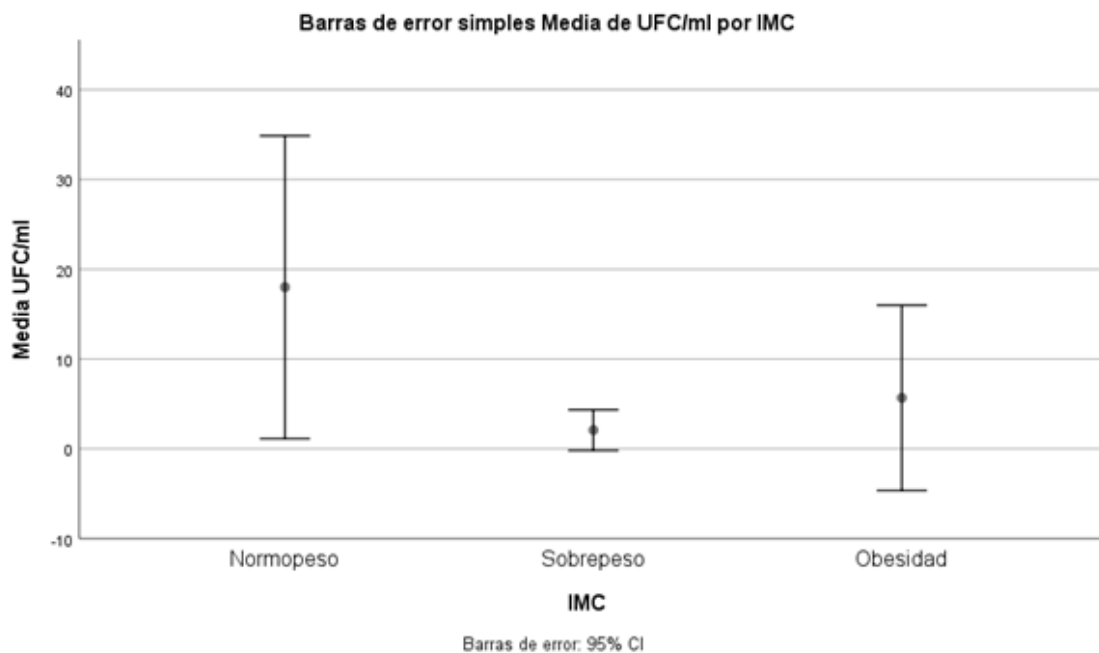


Gráfico 7: Media error estándar de muestras orales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Normopeso, Sobrepeso y Obesidad.

En el gráfico 7 se observa la media en barras de error simples y nos permite ver la diferencia que hay entre las medias de UFC/ml de los grupos. Donde la media de UFC/ml del grupo Normopeso se muestra con mayor amplitud, en comparación con los grupos de Obesidad y de Sobrepeso.

3.2 Comparación de la media de UFC/gr entre grupos de las muestras fecales.

En las muestras fecales de los individuos control (Normopeso) se obtuvo una media de 7 ± 13.109 UFC/ml, comparado con 13.08 ± 14.796 UFC/ml de los individuos con Sobrepeso y 2.83 ± 3.371 UFC/ml de los individuos con Obesidad. No se obtuvieron diferencias significativas entre normopeso y Sobrepeso (0.336), pero si se hallaron diferencias significativas entre Normopeso y Obesidad (0.003) (Gráfico 8, Gráfico 9, Gráfico 10)

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La mediana de las diferencias entre UFC Fecal Normopeso y UFC Fecal Sobrepeso es igual a 0.	Prueba de rangos con signo de Wilcoxon para muestras relacionadas	.336	Retener la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de .05.

Gráfico 8: Muestra los resultados de la Prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas, comparación de UFC/g en muestras fecales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Normopeso y Sobrepeso.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La mediana de las diferencias entre UFC Fecal Normopeso y UFC Fecal Obesidad es igual a 0.	Prueba de rangos con signo de Wilcoxon para muestras relacionadas	.003	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de .05.

Gráfico 9: Muestra los resultados de la Prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas ($p < 0.05$), comparación de UFC/g en muestras fecales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Normopeso y Obesidad.

Al igual que con las muestras orales, se comparó mediante una prueba de Wilcoxon la media de UFC/gr del grupo Normopeso con la media de UFC/gr del grupo con Sobrepeso y el grupo con Normopeso con el de Obesidad. Sin embargo, a diferencia de las muestras orales, no se hallaron diferencias significativas al comparar la media de UFC/gr del grupo Normopeso con el de Sobrepeso. Pero, si se hallaron diferencias significativas al comparar el grupo con Normopeso con el de Obesidad.

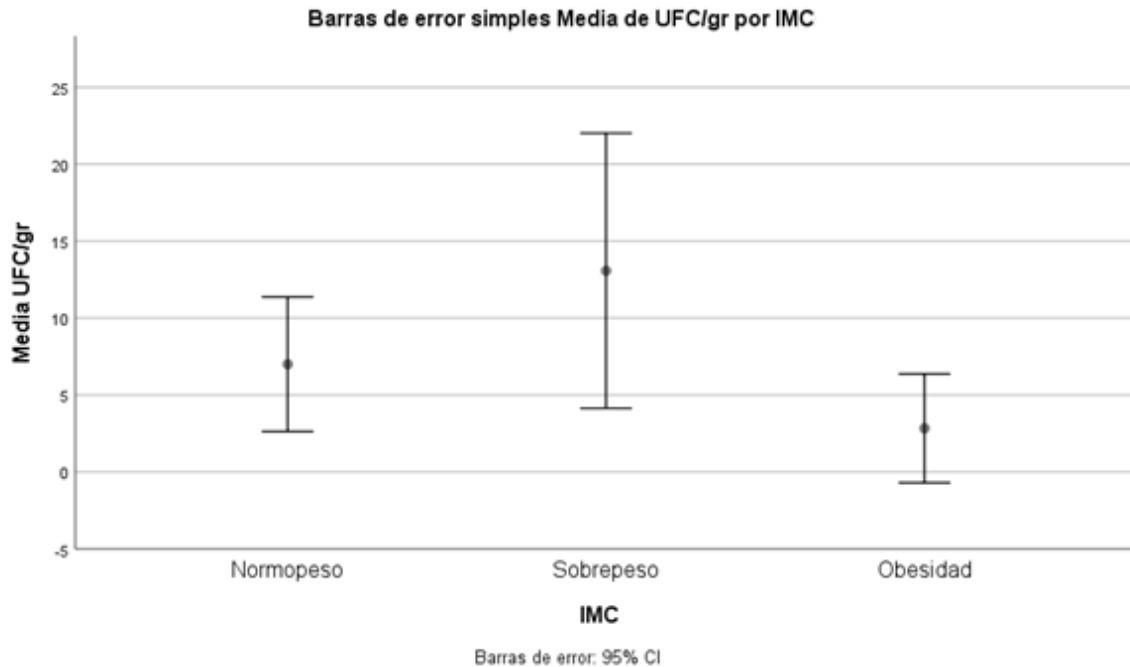


Gráfico 10: Media error estándar, muestras fecales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Normopeso, Sobrepeso y Obesidad.

Se muestra el gráfico obtenido al comparar las UFC/gr en muestras fecales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Normopeso, Sobrepeso y Obesidad, obteniendo diferencias significativas únicamente en la relación Normopeso / Obesidad, lo que nos permite ver la diferencia entre medias de UFC/gr de los grupos en las muestras fecales. Destaca la amplitud de la barra de Sobrepeso, la cual es la mayor entre los grupos, esto contrasta con lo observado en las muestras orales, en donde la barra de Sobrepeso es la menor, y la de Normopeso la de mayor amplitud. Sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a la media de UFC/gr del grupo Normopeso en comparación con el grupo Sobrepeso, pero sí con el de Obesidad, el cual presentó la media de UFC/gr más baja.

4. Factores que influyen en la colonización oral y fecal por *Candida* en jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Sobrepeso u Obesidad.

Se buscó identificar si factores como: niveles elevados de glucosa en la sangre (Hemoglobina glucosilada y prueba de glucosa en ayunas (mg/dl)), el pH salival y el IMC influyen en la colonización por *Candida* en la cavidad oral e intestinal de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Sobrepeso u Obesidad, para lo que se realizó una prueba de T para muestras pareadas (Tabla 4).

4.1 Factores que influyen en la colonización oral por *Candida* en los jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Sobrepeso u Obesidad.

Se compararon los valores de Hemoglobina glucosilada, prueba rápida de glucosa en ayunas, pH salival e IMC contra las UFC/ml de muestras orales de los jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Sobrepeso u Obesidad: Hemoglobina glucosilada / UFC/ml, no se obtuvieron diferencias significativas ($p = 0.161$), en cuanto a la glucosa (mg/dl) / UFC/ml se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.000$), en los datos de pH salival, se obtuvo un valor p de 0.083, no se consideran diferencias significativas, por último se comparó el IMC / UFC/ml obteniendo un valor de $p = 0.000$, considerándose significativo. (Tabla 4)

Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas							
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	UFC/ml - Hemoglobina glicosilada	-2.10526	6.28017	1.44077	-5.13221	.92168	-1.461	18	.161
Par 2	UFC/ml - Glucosa	-90.1000	15.3156	6.2526	-106.1728	-74.0272	-14.410	5	.000
Par 3	UFC/ml - pH	-3.125	6.734	1.684	-6.713	.463	-1.856	15	.083
Par 4	UFC/ml - IMC	-26.57474	7.64333	1.75350	-30.25871	-22.89077	-15.155	18	.000

Tabla 4: Prueba de T para muestras pareadas. Relación de la colonización oral (UFC/ml) con los datos de Hemoglobina glicosilada, Prueba rápida de glucosa en ayunas (mg/dl), pH salival e IMC.

En la Tabla 4 se muestra que factores como los niveles de glucosa en sangre (mg/dl), y el IMC influyen en la colonización por *Candida* en la cavidad oral de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Sobrepeso u Obesidad. ($p < 0.05$).

4.2 Factores que influyen en la colonización intestinal por *Candida* en jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Sobrepeso u Obesidad.

Se compararon los valores de Hemoglobina glicosilada, prueba rápida de glucosa en ayunas e IMC contra las UFC/gr de muestras fecales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Sobrepeso u Obesidad: Hemoglobina glicosilada / UFC/gr, no se obtuvieron diferencias significativas ($p 0.152$), en cuanto a la glucosa (mg/dl) / UFC/gr se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p 0.000$), por último, se comparó el IMC / UFC/gr obteniendo un valor de $p 0.000$, considerándose significativo. (Tabla 5)

Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas							
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	UFC/gr - Hemoglobina glicosilada	4.52632	13.18011	3.02373	-1.82630	10.87893	1.497	18	.152
Par 2	UFC/gr - Glucosa	-90.6000	15.8110	6.4548	-107.1926	-74.0074	-14.036	5	.000
Par 3	UFC/gr - IMC	-19.94316	15.41980	3.53754	-27.37526	-12.51105	-5.638	18	.000

Tabla 5: Prueba de T para muestras pareadas. Relación de la colonización fecal (UFC/gr) con los datos de Hemoglobina glucosilada, Prueba rápida de glucosa en ayunas (mg/dl), pH salival e IMC.

Muestra que factores como los niveles de glucosa en sangre (mg/dl), y el IMC influyen en la colonización intestinal por *Candida* de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Sobrepeso u Obesidad. ($p < 0.05$).

Discusión

1. Comparación de especies de *Candida* presentes en muestras orales.

El sobrepeso y la obesidad son los principales factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares, diabetes, trastornos del aparato locomotor y algunos cánceres [20]. A nivel nacional, la ENSANUT (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición) en 2020, publicó el porcentaje de adultos de 20 años o más con sobrepeso y obesidad en México, la cual era del 74.1% (38.1% sobrepeso y 36% obesidad) y se estima que los números se mantendrán en aumento. Un aumento en la ingesta de alimentos de alto contenido calórico y ricos en grasas, aunado a las actividades sedentarias, son los principales factores del sobrepeso y la obesidad. Sin embargo, no son las únicas consideraciones.

El género *Candida* es uno de los principales agentes fúngicos aislados en los estudios de microbiota oral e intestinal, se ha asociado su presencia a dietas con alto contenido de grasas y carbohidratos. Se ha sugerido una conexión entre *Candida spp.*, la diabetes y los desórdenes inflamatorios del tracto gastrointestinal como el sobrepeso o la obesidad [23,24].

En cuanto a la microbiota oral y la presencia de *Candida*, diversos estudios han aislado y caracterizado sus especies. Ghannoum et al., (2010) reportaron *Candida* en el 75% de su población y Peters et al., (2017) reportaron un 100% de aislamientos de un grupo control de 15 individuos. Benedetti et al., (2016) aislaron un 37.08% de *Candida* de un grupo control de 89 individuos. En este trabajo, se obtuvieron 18/56 aislamientos con crecimiento correspondiendo al 32.14%. Este porcentaje de aislamientos se asemeja más al observado por Benedetti et al., (2016). Con pocos estudios actualmente publicados de la microbiota oral, es complicado señalar una razón de la diferencia entre este estudio y los otros; las posibles razones incluyen diferencias en la residencia geográfica de las poblaciones de estudio, diferencias en razas/etnicidades, diferencias en la dieta, diferencias en la edad, la exposición a antibióticos y diferencias en la metodología.

En cuanto a las especies halladas destaca la presencia mayoritaria de *C. albicans* en comparación con otras especies identificadas y su presencia en todos los grupos de estudio. Esto concuerda con lo hallado por Benedetti et al., (2016), Ghannoum et al., (2010) y López (2018) quienes también reportaron a la especie *C. albicans* como la más frecuentemente aislada en la cavidad oral. *C. albicans* es una especie de levadura con una amplia variabilidad genética y una gran adaptabilidad a diferentes sitios anatómicos, lo que puede explicar su alta frecuencia de aislamiento en el hospedero humano [25].

A sí mismo, la única especie que se registró en el grupo de Obesidad fue *C. albicans*. La especie *C. tropicalis* únicamente se observó en el grupo con Sobrepeso, tanto Benedetti et al., (2016) y Ghannoum et al., (2010) aislaron la especie, pero con poca frecuencia 1 y 3 aislamientos respectivamente en una población de adultos sanos, y López (2018) en una población de individuos adultos de la ciudad de Puebla, Puebla no halló en ninguna de sus muestras la especie. Aunque *C. albicans* es la especie con mayor prevalencia en las infecciones fúngicas invasivas, la incidencia de infecciones por especies no-*albicans* está aumentando. Este cambio en la epidemiología se puede asociar con la edad, los cambios en el estilo de vida, la diabetes, inmunosupresión severa, nacimientos prematuros, exposición a antibióticos de amplio espectro y pacientes mayores [26].

2. Comparación de especies de *Candida* presentes en muestras fecales.

En cuanto a las muestras fecales, se halló al género *Candida* en 31/56 individuos, lo que corresponde al 55.35% del total de la población. Este porcentaje de aislamientos contrasta con lo hallado por Nash et al., (2017) donde aisló un 80.8% de *Candida* en un grupo de 147 adultos saludables de edades entre 18 y 40 años. También está en desacuerdo con lo hallado por López (2018), quien reportó un 80% de aislamientos en muestras fecales en una población de 44.4 años en promedio. Únicamente el grupo de Sobrepeso en nuestro estudio concuerda con lo reportado tanto por Nash et al., (2017) y por López (2018), presentando *Candida* en el 88.62% de los individuos. A diferencia de las muestras orales donde encontramos un aumento

considerable de aislamientos en el grupo con Sobrepeso. Así mismo, en las muestras fecales tanto el grupo de Sobrepeso (84.62%) como el grupo de Obesidad (66.67%) presentaron un mayor porcentaje de aislamientos para *Candida*, a diferencia del grupo de Normopeso el cual tuvo un 43.24% de aislamientos.

Si observamos la población del estudio de López (2018), en su trabajo compara la prevalencia de especies del género *Candida* en adultos diabéticos del Estado de Puebla, con una población control de adultos no diabéticos del Estado de Puebla. Su población control es de 15 individuos, los cuales en promedio presentan un IMC de 28.31 ± 5.09 , rango que los ubica en el Sobrepeso. Si observamos su reporte de glucosa en ayunas, el grupo control presenta en promedio una glucosa de 108 ± 9.9 , valores por encima del recomendado para personas no diabéticas (valores normales en ayunas de 72–99 mg/dL). Si comparamos estos datos con los obtenidos en este trabajo, podemos observar que el grupo con Sobrepeso presenta un IMC promedio de 27.28 ± 1.59 , índice menor que el del grupo control de López (2018). En cuanto a la prueba de glucosa en ayunas, el grupo con Sobrepeso de este trabajo reportó una glucosa en ayunas de 96.425 ± 11.91 , el reporte más alto entre los grupos, aún por encima del grupo con Obesidad que es de 94.450 ± 6.4347 y del de Normopeso, el cual presentó una glucosa en ayunas de 84.067 ± 9.9155 . Esto puede explicar la similitud entre los porcentajes de aislamiento hallados por López (2018) en su grupo control y los de este trabajo en el grupo con Sobrepeso.

En cuanto a la prevalencia de *Candida* en muestras fecales. Es notoria la diferencia con las muestras orales, en donde las muestras fecales de todos los grupos mostraron un mayor porcentaje de crecimiento. El microbioma humano difiere radicalmente entre diferentes sitios corporales y entre individuos. Estas diferencias están asociadas con la disponibilidad de nutrientes, agua, oxígeno y otras características específicas del sitio [8].

Se identificó *C. albicans* en las muestras fecales de todos los grupos excepto en el de Obesidad. Sin embargo, no son la especie predominante como sucede en el

caso de las muestras orales. Las especies con mayor registro en todos los grupos fue de *Candida sp.* (especies no identificadas de *Candida*) que a diferencia de López (2018) quien reportó a *C. glabrata* como la especie con mayor prevalencia en adultos de la ciudad de Puebla, Puebla. En este trabajo también se halló una alta incidencia de *C. glabrata* en todos los grupos de estudio de las muestras fecales. *C. albicans* es la especie que con mayor prevalencia se encuentra en el micobioma humano. Sin embargo, se ha observado una predominancia de especies no-*albicans* en reportes de Centros Médicos de Estados Unidos y en países europeos. Este cambio en la epidemiología también se ha reportado en Chile, donde la prevalencia de *C. albicans* ha cambiado, y un incremento progresivo de especies no-*albicans* como *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* se ha observado. Estos cambios en los reportes se han asociado. Al igual que ocurre con la microbiota bacteriana, y la micobiota de la cavidad oral, la micobiota intestinal está determinada por la edad, el género, la dieta y el entorno geográfico del hospedero [27].

Destaca la presencia de *C. tropicalis* en los grupos de Sobrepeso y Obesidad con un 3.57% de aislamiento en total, esto concuerda con lo reportado por López (2018) quien reportó un 4.54% de presencia de la especie. De tal forma se halló en las muestras fecales una mayor presencia de *C. krusei* y *C. tropicalis* en contraste con las muestras orales, las cuales se identificaron acompañadas de otras especies, dando aislamientos mixtos. Creciente evidencia ha demostrado que las especies de *Candida* pueden interactuar entre sí formando cultivos mixtos, con dos presentaciones principales que incluyen comensalismo y antagonismo. Una de las principales características de la interacción *Candida-Candida* es la habilidad de formar biopelículas, las cuales son un consorcio de microorganismos encerrados y protegidos por una matriz extracelular. Este único ambiente provee beneficios a los microorganismos, incluyendo protección de las defensas inmunes del hospedero, disponibilidad de nutrientes y resistencia a estrés físico y químico, como lo puede ser a antibióticos o antifúngicos. Estudios han demostrado una sinergia entre *C. albicans* y *C. glabrata* y, además, que la precolonización de *C. albicans* facilita la proliferación de *C. glabrata* [28]. Debido a que las biopelículas de especies mixtas de *Candida* se encuentran a menudo en situaciones clínicas, el seguimiento de los

cambios en la composición de especies de las biopelículas nos puede proporcionar una mejor comprensión de la generación de la resistencia a antifúngicos [29].

3. Relación de los valores de Hemoglobina glicosilada, glucosa, IMC y pH con el número de UFC de muestras orales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Sobrepeso u Obesidad.

Se comparó la colonización de *Candida* mediante el número de UFC/ml en muestras orales entre los grupos de estudio. Se hallaron diferencias significativas al comparar las UFC/ml en muestras orales del grupo con Normopeso y el grupo con Sobrepeso, presentado un mayor número de UFC/ml en el grupo Normopeso. De igual manera, se comparó el número de UFC/ml del grupo Normopeso con el conteo de UFC/ml del grupo con Obesidad, se hallaron diferencias significativas presentando el grupo con Normopeso un mayor conteo de UFC/ml. Ambos resultados concuerdan con lo reportado por López (2018) donde un menor IMC se relaciona con un incremento en las UFC/ml en la cavidad oral. Sin embargo, el trabajo de López (2018), se realizó en individuos diabéticos que presentaron un menor IMC en comparación con el grupo control de no diabéticos, los dos grupos presentaron un nivel de Sobrepeso. Lo que sugiere que la relación del IMC con el número de UFC/ml se deba principalmente a otros factores.

Dichos hallazgos infieren un aumento en la colonización de la cavidad oral de los individuos con Normopeso, en comparación con los grupos de Sobrepeso y de Obesidad. El IMC es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad. Sin embargo, no es el único factor que influye en la condición. Diversos factores pueden influir, por lo que se buscó la relación que pueden tener los niveles de glucosa en sangre (Hemoglobina glicosilada y prueba de glucosa en ayunas) y el pH salival en la colonización de *Candida* en la cavidad oral.

Se ha reportado que los altos niveles de glucosa permiten a *Candida sp.* multiplicarse, incluso bajo la presencia de microbiota bacteriana. La glucosa suprime la capacidad de matar de los neutrófilos, enfatizando la colonización de *Candida*. También, se ha reportado que la glucosa, la maltosa y la sacarosa aumentan la

adhesión de *Candida* a células epiteliales bucales. De igual forma, hay evidencia que sugiere que el crecimiento de *Candida* en saliva se ve acompañado por una rápida disminución del pH, como sucede en los individuos diabéticos, lo que favorece su crecimiento y desencadena la fosfolipasa extracelular y proteasas ácidas, incrementando la adhesión de las levaduras a las mucosas orales [30].

En este estudio se pidió una prueba de Hemoglobina glicosilada, y se le realizó el día de la toma de muestra oral y fecal, también, una toma de muestra de pH salival y una lectura de glucosa en ayunas. No se halló una relación significativa entre el número de UFC/ml en la cavidad oral de los grupos de Sobrepeso y Obesidad y los niveles de Hemoglobina glicosilada (p 0.161). Cabe mencionar que el grupo de Obesidad fue el que presentó los valores de Hemoglobina glicosilada más altos entre los grupos, llegando al límite del rango normal y todos los grupos permanecen dentro del rango de valores normales. Tampoco se halló una relación significativa con el pH salival (p 0.083). Al igual que los valores de Hemoglobina glicosilada, no existe una diferencia significativa en los valores de pH entre los grupos. Sugiriendo que podrían no influir en la colonización de *Candida* en cavidad oral. Sin embargo, en los valores de la prueba de glucosa en sangre se halló una relación significativa (p 0.000) entre el grupo con Normopeso y los de Sobrepeso y Obesidad. Relacionando un bajo valor dentro del rango normal de glucosa con un aumento en la colonización de *Candida* en la cavidad oral.

Los resultados de las relaciones de la Hemoglobina glicosilada y el pH, no concuerdan con lo reportado por López (2018), ya que en el estudio si hallaron una relación significativa. López (2018) comparó un grupo control con un grupo diabético. Su grupo diabético presentó un elevado valor de Hemoglobina glicosilada fuera de los rangos normales, así como una alta glucosa y un pH disminuido, atribuido por la condición diabética del grupo. Relacionó un aumento en la colonización de *Candida* en la cavidad oral, con un aumento en la glucosa en adultos diabéticos. Situación contraria a la observada en este trabajo, en donde se relaciona una disminución de la glucosa con un aumento de las UFC/ml en la cavidad oral de jóvenes universitarios. Sugiriendo que la colonización de *Candida*

en muestras orales se debe principalmente al IMC y a los niveles de glucosa en ayunas.

4. Relación de los valores de Hemoglobina glicosilada, glucosa e IMC con el número de UFC de muestras fecales de jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla con Sobrepeso u Obesidad.

Al igual que con las muestras orales, se comparó la colonización de *Candida* mediante el número de UFC/gr en muestras fecales entre los grupos de estudio. No se hallaron diferencias significativas al comparar las UFC/gr de muestras fecales del grupo con Normopeso y el grupo con Sobrepeso. Se comparó el número de UFC/gr del grupo con Normopeso con el número de UFC/gr en el grupo con Obesidad, se hallaron diferencias significativas presentando el grupo con Normopeso un mayor conteo de UFC/gr a diferencia del grupo con Obesidad. Situación que concuerda con lo hallado por López (2018), en donde reporta un aumento del número de UFC/gr en muestras fecales con un menor IMC.

Así mismo, se relacionó el IMC con el número de UFC/gr provenientes de las muestras fecales de los grupos de estudio, hallando una relación significativa ($p < 0.000$). Observando que el aumento en el IMC se relaciona con un menor número de UFC/gr en las muestras fecales de los jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla. Sin embargo, el grupo de Sobrepeso fue el que presentó el mayor porcentaje de crecimiento y el grupo que presentó el más alto contenido de UFC/gr, pero no es el grupo con el IMC más bajo. El grupo de Sobrepeso (IMC 27.28), no presenta diferencias significativas con el grupo Normopeso (IMC 21.60) en cuanto a los niveles de UFC/gr, pero si lo es con el de Obesidad (IMC 35.20). Esto sugiere que a niveles altos de IMC se observa una disminución de las UFC/gr de *Candida* en muestras fecales.

De la misma forma en la que se trabajaron las muestras orales. Se buscó la relación que pueden tener los niveles de glucosa en sangre (Hemoglobina glicosilada y prueba de glucosa en ayunas) con la colonización de *Candida* en muestras fecales. No se halló una relación significativa entre el número de UFC/gr en las muestras fecales de los grupos de Sobrepeso y Obesidad y los niveles de Hemoglobina

glucosilada (p 0.152). En cuanto a la prueba de glucosa en ayunas, se halló una diferencia significativa (p 0.000), sugiriendo que los niveles de glucosa influyen en la colonización fecal por *Candida*. Este reporte de datos no concuerda con lo hallado por López (2018), en donde si encuentra una relación con la Hemoglobina glicosilada, pero no la encuentra con la glucosa. Como ya se planteó, López (2018) comparó un grupo control de adultos mayores que presentan un IMC en Sobrepeso y una glucosa por encima del rango de valores normales, con un grupo de estudio de adultos mayores diabéticos, que ya por su condición tienen valores de Hemoglobina glucosilada y de glucosa en ayunas altos. La evidencia de este trabajo sugiere que los altos niveles de glucosa en ayunas influyen en la colonización de *Candida* en las muestras fecales. Sugiriendo que la colonización de *Candida* en muestras fecales se debe principalmente al IMC y a los niveles de glucosa en ayunas.

Un estudio profundo de la microbiota y *Candida spp.*, de sus funciones, interacciones y composiciones pueden ser un vehículo de ayuda para el entendimiento del sobrepeso y la obesidad. Conocer sus causas, consecuencias y sus interacciones en el cuerpo humano, permite y facilita la elaboración de mejores estrategias para prevenir y combatir los efectos negativos del sobrepeso, la obesidad y una glucosa en sangre fuera de los rangos de valores recomendados.

Conclusiones

- La especie *C. albicans* es la prevalente en las muestras orales tanto en el grupo Normopeso, Sobrepeso y Obesidad. Mientras que la especie predominante en las muestras fecales es *Candida sp.* en todos los grupos de estudio, seguida de *C. glabrata* y *C. albicans*.
- El aumento en el IMC se relaciona con un menor número de UFC en las muestras orales y fecales de los jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla.
- Los bajos niveles de glucosa en ayunas se relacionan con un aumento en la colonización de *Candida* en muestras orales de los jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla.
- Un mayor nivel de glucosa dentro del rango normal podría relacionarse con un aumento en la colonización de *Candida* en muestras fecales de los jóvenes universitarios de la ciudad de Puebla, Puebla.

Anexos

- Formato de consentimiento informado

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA.

H. Puebla de Zaragoza a ____ de _____ del _____

Por medio de la presente yo, _____ autorizo y acepto participar en el proyecto de investigación clínica titulado “Relación de Especies de *Candida* y el Índice de Masa Corporal en Individuos Universitarios” El cual será realizado en el Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas (CICM) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

El objetivo del estudio es relacionar las especies encontradas de *Candida* con el Índice de Masa Corporal (IMC) en individuos universitarios.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en: Una toma de muestra oral, una muestra fecal, una toma de muestra para el análisis de la hemoglobina glucosilada, además de un test referente a mis antecedentes familiares y alimentación.

Beneficios: Colaborar con un estudio clínico. Identificación de especies de *Candida*, ya que puede haber relación entre las especies encontradas y el IMC.

En el caso de la muestra sanguínea implica un mínimo de molestia. La toma de muestra oral no es una técnica invasiva y no implica dolor.

El investigador responsable se ha comprometido a darme información, y aclarar las dudas que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo.

El identificador responsable me ha dado seguridades de que no se me identificara en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información que se obtenga durante el estudio, aunque este pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte mi condición de estudiante.

Nombre y Firma.

Número telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de emergencias, dudas o preguntas relacionadas con el estudio. M.C. Silvia María del Carmen García García 2295500 ext. 2508.

Bibliografía

1. Methé, B. and Nelson, K., 2012. A framework for human microbiome research. *Nature*, 486(7402), pp.215-221.
2. Huttenhower, C., 2012. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), pp.207-214.
3. Li, K., Bihan, M., Yooseph, S. and Methé, B., 2012. Analyses of the Microbial Diversity across the Human Microbiome. *PLoS ONE*, 7(6), p.e32118.
4. Chin V, Yong V, Chong P, Amin Nordin S, Basir R, Abdullah M. Mycobioime in the Gut: A Multiperspective Review. *Mediators of Inflammation*. 2020; 2020:1-16.
5. Zmora, N., Suez, J. and Elinav, E., 2018. You are what you eat: diet, health and the gut microbiota. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16(1), pp.35-56.
6. Cuevas-Sierra, A., Ramos-Lopez, O., Riezu-Boj, J., Milagro, F. and Martinez, J., 2019. Diet, Gut Microbiota, and Obesity: Links with Host Genetics and Epigenetics and Potential Applications. *Advances in Nutrition*, 10(suppl_1), pp.S17-S30.
7. Nash A, Auchtung T, Wong M, Smith D, Gesell J, Ross M et al. The gut mycobioime of the Human Microbiome Project healthy cohort. *Microbiome*. 2017;5(1).
8. Hoffmann C, Dollive S, Grunberg S, Chen J, Li H, Wu G et al. Archaea and Fungi of the Human Gut Microbiome: Correlations with Diet and Bacterial Residents. *PLoS ONE*. 2013;8(6).
9. Hallen-Adams H, Kachman S, Kim J, Legge R, Martínez I. Fungi inhabiting the healthy human gastrointestinal tract: a diverse and dynamic community. *Fungal Ecology*. 2015; 15:9-17.
10. Tiew, P., Mac Aogain, M., Ali, N., Thng, K., Goh, K., Lau, K. and Chotirmall, S., 2020. The Mycobioime in Health and Disease: Emerging Concepts, Methodologies and Challenges. *Mycopathologia*, (185), pp.207-231.

11. Donovan, P., Gonzalez, G., Higgins, D., Butler, G. and Ito, K., 2018. Identification of fungi in shotgun metagenomics datasets. *PLOS ONE*, 13(2), p.e0192898.
12. Fechner, J., Browne, G., Prabhu, N., Irinyi, L., Meyer, W., Hughes, T., Bockmann, M., Townsend, G., Salehi, H. and Adler, C., 2018. Preliminary study of the oral mycobiome of children with and without dental caries. *Journal of Oral Microbiology*, 11(1), p.1536182.
13. Witherden, E., Shoaie, S., Hall, R. and Moyes, D., 2017. The Human Mucosal Mycobiome and Fungal Community Interactions. *Journal of Fungi*, 3(4), p.56.
14. Ghannoum M, Jurevic R, Mukherjee P, Cui F, Sikaroodi M, Naqvi A et al. Characterization of the Oral Fungal Microbiome (Mycobiome) in Healthy Individuals. *PLoS Pathogens*. 2010;6(1).
15. Peters B, Wu J, Hayes R, Ahn J. The oral fungal mycobiome: characteristics and relation to periodontitis in a pilot study. *BMC Microbiology*. 2017;17(1).
16. Dupuy A, David M, Li L, Heider T, Peterson J, Montano E et al. Redefining the Human Oral Mycobiome with Improved Practices in Amplicon-based Taxonomy: Discovery of *Malassezia* as a Prominent Commensal. *PLoS ONE*. 2014;9(3).
17. Rodrigues, C., Rodrigues, M. and Henriques, M., 2019. *Candida* sp. Infections in Patients with Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Medicine*, 8(1), p.76.
18. López A., 2018. Prevalencia de especies del género *Candida* en adultos diabéticos del estado de Puebla [Undergraduate]. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
19. Mar Rodríguez M, Pérez D, Javier Chaves F, Esteve E, Marin-Garcia P, Xifra G et al. Obesity changes the human gut mycobiome. *Scientific Reports*. 2015; 5(1).
20. Organización Mundial de la Salud (9 de Junio de 2021) Obesidad y Sobrepeso. Recuperado el 2 de Junio de 2022. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

21. Shamah-Levy T, Romero-Martínez M, Barrientos-Gutiérrez T, Cuevas-Nasu L, Bautista-Arredondo S, Colchero MA, GaonaPineda EB, Lazcano-Ponce E, Martínez-Barnetche J, Alpuche-Arana C, Rivera-Dommarco J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2020 sobre Covid-19. Resultados nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2021. p 135-152
22. Sanmiguel C, Gupta A, Mayer E. Gut Microbiome and Obesity: A Plausible Explanation for Obesity. *Current Obesity Reports*. 2015; 4(2):250-261.
23. Heisel T, Montassier E, Johnson A, Al-Ghalith G, Lin Y, Wei L et al. High-Fat Diet Changes Fungal Microbiomes and Interkingdom Relationships in the Murine Gut. *mSphere*. 2017;2(5).
24. Swann, Jonathan. (2018). The role of the gut microbiome in obesity. *Endocrine Abstracts*. 10.1530/endoabs.59.S7.2.
25. Benedetti, V., Savi, D., Aluizio, R., Adamoski, D., Kava-Cordeiro, V., Galli-Terasawa, L. and Glienke, C., 2016. Analysis of the genetic diversity of *Candida* isolates obtained from diabetic patients and kidney transplant recipients. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(7), pp.417-422.
26. Sardi J, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida A, Mendes Giannini M. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*. 2013;62(1):10-24.
27. Strati F, Di Paola M, Stefanini I, Albanese D, Rizzetto L, Lionetti P et al. Age and Gender Affect the Composition of Fungal Population of the Human Gastrointestinal Tract. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7: 1227
28. Li Q, Liu J, Shao J, Da W, Shi G, Wang T et al. Decreasing Cell Population of Individual *Candida* Species Does Not Impair the Virulence of *Candida albicans* and *Candida glabrata* Mixed Biofilms. *Frontiers in Microbiology*. 2019;10: 1600
29. Vipulanandan G¹, Herrera M, Wiederhold N, Li X, Mintz J, Wickes B et al. Dynamics of Mixed–*Candida* Species Biofilms in Response to Antifungals. *Journal of Dental Research*. 2017;97(1):91-98.

30. Rodrigues C, Rodrigues M, Henriques M. Candida sp. Infections in Patients with Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Medicine*. 2019;8(1):76.
31. Goodman A, Gordon J. Our Unindicted Coconspirators: Human Metabolism from a Microbial Perspective. *Cell Metabolism*. 2010;12(2):111-116.
32. Knight R, Callewaert C, Marotz C, Hyde E, Debelius J, McDonald D et al. The Microbiome and Human Biology. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2017;18(1):65-86.
33. Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, Schloss J et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*. 2009;19(12):2317-2323.
34. Versalovic J. Human Microbiome Project – Core Microbiome Sampling Protocol A [Internet]. 9th ed. National Institutes of Health (NIH); 2010 [cited 22 May 2022]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gap/cgi-bin/GetPdf.cgi?id=phd002854.2>
35. Wilmanski T, Rappaport N, Diener C, Gibbons S, Price N. From taxonomy to metabolic output: what factors define gut microbiome health?. *Gut Microbes*. 2021;13(1).
36. Costello E, Lauber C, Hamady M, Fierer N, Gordon J, Knight R. Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time. *Science*. 2009;326(5960):1694-1697.
37. Amabebe E, Robert F, Agbalalah T, Orubu E. Microbial dysbiosis-induced obesity: role of gut microbiota in homeostasis of energy metabolism. *British Journal of Nutrition*. 2020;123(10):1127-1137.
38. Gao S, Imran Khan M, Kalsoom F, Liu Z, Chen Y, Chen Z. Role of gene regulation and inter species interaction as a key factor in gut microbiota adaptation. *Archives of Microbiology*. 2022;294(342) (2022).
39. Crovesy L, Masterson D, Rosado E. Profile of the gut microbiota of adults with obesity: a systematic review. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2020;74(9):1251-1262.

40. Hills R, Pontefract B, Mishcon H, Black C, Sutton S, Theberge C. Gut Microbiome: Profound Implications for Diet and Disease. *Nutrients*. 2019;11(7):1613. doi: 10.3390/nu11071613
41. Bombin A, Yan S, Bombin S, Mosley J, Ferguson J. Obesity influences composition of salivary and fecal microbiota and impacts the interactions between bacterial taxa. *Physiological Reports*. 2022;10(7): e15254
42. Wu L, Zeng T, Deligios M, Milanese L, Langille M, Zinellu A et al. Age-Related Variation of Bacterial and Fungal Communities in Different Body Habitats across the Young, Elderly, and Centenarians in Sardinia. *mSphere*. 2020;5(1). e00558-19
43. Cannon R. Oral Fungal Infections: Past, Present, and Future. *Frontiers in Oral Health*. 2022;3: 838639
44. Santus W, Devlin J, Behnsen J. Crossing Kingdoms: How the Mycobiota and Fungal-Bacterial Interactions Impact Host Health and Disease. *Infection and Immunity*. 2021;89(4): e00648-20