



ORIGINAL

Variación de la microbiota oral facultativa durante períodos de estrés académico

Victor Ludeña-Meléndez ^{a,b,*}, Jussara Malo-Castillo^{a,b}, Paula Ishikawa-Arias^{a,b}, Harold Jimenez-Alvarez^{a,b}, Criss Ocampo^{a,b}, Cristhian Guevara-Coronel^{a,b}, Leonardo Ledesma Chavarria^{a,b}, Meilyn Lujan-Benites^b, Cristhian Terrones^b, Christian Eduardo Vilca Avalos^b y Maria Soledad Ayala Ravelo^{b,c}

^a Sociedad Científica de Estudiantes de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú

^b Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú

^c Departamento de Ciencias Básicas Médicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú

Recibido el 19 de marzo de 2025; aceptado el 16 de septiembre de 2025

Disponible en Internet el 16 de octubre de 2025

PALABRAS CLAVE

Microbiota;
Cavidad oral;
Estudiantes de
Medicina;
Estrés académico;
Higiene bucal

Resumen El estrés académico constituye un factor que puede impactar en la salud de los estudiantes. El objetivo de este estudio fue evaluar la variación de la microbiota oral facultativa de estudiantes de Medicina en períodos de estrés académico percibido, en concreto, cuando están próximos a rendir evaluaciones. Se trató de un estudio analítico observacional basado en el análisis de muestras de enjuague bucal y recuento de unidades formadoras de colonias de microorganismos bacterianos y fúngicos recuperados de la cavidad oral (UFC/ml). Se incluyeron 47 participantes, 59,57% fueron varones, 55,32% presentó buenos hábitos de higiene oral y 93,62% perteneció a un nivel socioeconómico medio o bajo. El puntaje de estrés académico evaluado mediante un cuestionario fue mayor frente al evento estresor que una vez pasado este ($EAU = 62,5 \pm 12,3$ vs. $55,5 \pm 12,3$) y se asoció significativamente con un mayor recuento de bacterias. Se identificaron colonias de levaduras en CHROMagar™ correspondientes a *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata* y *Candida* spp. También se detectaron asociaciones entre el estrés académico percibido y los cambios en la microbiota oral bacteriana y entre el nivel socioeconómico y los cambios en la microbiota oral fúngica.

© 2025 Los Autores. Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de Asociación Argentina de Microbiología. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: victorino.2710@hotmail.com (V. Ludeña-Meléndez).

KEYWORDS

Microbiota;
Mouth;
Medical students;
Stress;
Oral hygiene

Variation of the facultative oral microbiota during periods of academic stress

Abstract Academic stress is a factor that impacts the health of medical students by altering their body's internal environment and its various constituent systems, including the microbiota of the digestive system, particularly that of the oral cavity. Therefore, the objective of this study was to evaluate the variation in the facultative oral microbiota of medical students during periods of perceived academic stress during evaluation periods. This was an observational, analytical study that used mouthwash samples and microbiological colony-forming units counts per ml (CFU/ml) of oral bacterial and fungal microorganisms. Forty-seven participants were included: 59.57% were male, 55.32% had good oral hygiene habits, and 93.62% belonged to a middle or low socioeconomic status. The academic stress score was higher in response to the stressful event ($UAE = 62.5 \pm 12.3$) and was significantly associated with a higher CFU/ml count ($p < 0.05$). Yeast colonies corresponding to *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, and *Candida* spp. were identified on CHROMagar™. It is concluded that there is an association between perceived academic stress and socioeconomic status with the variation in the bacterial and fungal oral microbiota, respectively.

© 2025 The Authors. Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of Asociación Argentina de Microbiología. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introducción

Un porcentaje importante del microbioma humano corresponde a la microbiota oral. La comunidad oral desempeña diversas funciones en la salud bucal; una función relevante es la de proteger contra la colonización de bacterias extrínsecas causantes de enfermedades, como caries, gingivitis y periodontitis. Diversos factores, incluidos los hábitos de higiene oral, la alimentación, el consumo de alcohol o tabaco y las condiciones socioeconómicas, influyen en la microbiota oral y en la salud bucal.

Además, el cuidado de la microbiota oral incide en la aparición de factores de riesgo para el desarrollo de importantes enfermedades como tumores, diabetes o enfermedades cardiovasculares; también se menciona relación de la microbiota oral con partos prematuros y bajo peso al nacer⁵.

Más de 700 tipos de microorganismos colonizan la cavidad oral humana; bacterias del género *Streptococcus* se encuentran en tejidos blandos, saliva y lengua; miembros de *Actinomyces* ocupan el espacio supraeencial e infraeencial y las fisuras linguales. Además, se pueden establecer complejos bacterianos conformados por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas encialis* y *Tannerella forsythia*; estos organismos son capaces de colonizar intracelularmente el epitelio oral^{2,23}. Respecto a la microbiota fúngica, *Candida* suele aislarse con frecuencia, mientras que otros potenciales patógenos como *Cryptococcus*, *Aspergillus* y *Fusarium* se presentan de manera inconstante^{2,23}.

El estrés académico percibido se refiere al impacto que tiene la presión social y autoimpuesta en el estado psicológico de los estudiantes, lo cual puede atribuirse a distintos factores: tener que afrontar exámenes, una gran cantidad de responsabilidades académicas, privación del sueño y períodos de evaluación regular, entre otros³⁴. Se lo considera uno de los principales tipos de estrés entre los estudiantes universitarios y se lo define como «la reacción fisiológica y neuroendocrina ante situaciones o estímulos académicos,

que no solo compromete funciones fisiológicas, sino que también afecta la conducta, el estado emocional e incluso puede llegar a comprometer el ámbito cognitivo»²⁸.

Estudios recientes demuestran una asociación epidemiológica entre las enfermedades relacionadas con la ansiedad, el estado de ánimo y los traumas y aquellas vinculadas con una microbiota alterada¹⁷. Además, se ha evidenciado una asociación entre niveles elevados de estrés académico percibido y el incremento de la proliferación de *Streptococcus viridans* y *Candida albicans*, acompañado de un descenso marcado en el pH salival³³. En lo fisiológico, el cortisol y las catecolaminas se asocian con el aumento de bacterias como *Fusobacterium nucleatum*¹⁴.

Cabe resaltar, asimismo, que los hábitos higiénicos se han relacionado con la diversidad bacteriana y la carga total de ciertos microorganismos periodontales, entre ellos, *Porphyromonas* spp., *Treponema* spp. y *Bacteroides* spp.³. También se ha observado una asociación entre personas con condiciones socioeconómicas bajas y malos hábitos higiénicos, en contraste con las personas de una condición socioeconómica más alta, lo cual hace referencia a las limitaciones del acceso a condiciones adecuadas de salud oral²¹.

El presente trabajo tuvo la finalidad de determinar si existe variación de la microbiota oral facultativa en los estudiantes de Medicina por efecto del estrés académico durante un período de evaluación regular de una experiencia curricular en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), Perú.

Métodos

Diseño del estudio

Se realizó un estudio de tipo analítico observacional con el fin de determinar la variación de la microbiota oral facultativa por efecto del estrés académico percibido en estudiantes de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

jillo, Perú, matriculados en la experiencia curricular de Farmacología Básica.

Población y toma de muestras

La población de estudio estuvo compuesta por 53 estudiantes del tercer año de Medicina, matriculados en la experiencia curricular de Farmacología Básica. Para calcular el tamaño de la muestra, se realizó un muestreo aleatorio simple y se utilizaron las siguientes fórmulas:

Tamaño muestral:

$$n_0 = \frac{Z_{\alpha/2}^2 * PQ}{E^2} = \frac{(1.96)^2 * (0.25)}{(0.05)^2} = 384 \quad (1)$$

n_0 : Tamaño de la muestra

P: probabilidad de éxito (se considera 0,5 debido a que no se cuentan con estudios similares previos)

$Z_{\alpha/2}$: nivel de confianza

Q: (1-P) probabilidad de fracaso

E: error de estimación máximo aceptado

$$n = \frac{n_0}{1 + \frac{n_0}{N}} = \frac{384}{1 + \frac{384}{53}} = 46,6 \quad (2)$$

Corrección para una muestra finita:

n: tamaño muestral corregido

n_0 : tamaño muestral calculado

N: tamaño de la población

El tamaño muestral fue calculado al 95% de confianza y con un 5% de margen de error; este cálculo dio un mínimo de 47 participantes, quienes fueron seleccionados en cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión.

Se incluyó a estudiantes de tercer año de Medicina de la UNT matriculados en la experiencia curricular de Farmacología Básica que se encontrasen en ayunas y sin haberse lavado los dientes en las 12 h anteriores a las tomas de muestra. Se excluyó a los estudiantes que consumieron antibióticos durante los 15 días anteriores al estudio.

Procedimientos

Se comunicó a los participantes que la recolección de muestras y datos se realizaría en 2 oportunidades: horas antes del cuarto examen de la unidad de la experiencia curricular de Farmacología Básica y una semana después de aquel. Además, se les explicó que sus datos personales serían de uso estrictamente confidencial y que se respetaría su decisión de abandonar el estudio, si así lo requiriesen. Después de haber obtenido el consentimiento informado firmado, se procedió con las siguientes etapas del estudio.

1. Recolección de datos:

a. Evaluación de las condiciones de estrés:

- Se entregó a cada participante el Cuestionario de Estrés Académico en la Universidad (CEAU), confeccionado por García-Ros y Pérez-González⁹. Este cuestionario, que permitió evaluar las posibles situaciones estresantes en el ámbito universitario, está conformado por 21 ítems.
- Cada ítem se encuentra en una escala de tipo Likert, la cual cuenta con 5 opciones que van desde

«Nada de estrés» (puntuación como 1) hasta «Mucho estrés» (puntuación como 5).

Asimismo, este cuestionario se divide en 4 subescalas:

- Primera subescala: obligaciones académicas (OA). Está conformada por 7 ítems (preguntas 1, 5, 7, 9, 10, 14 y 15). Esta subescala evalúa el nivel de estrés generado por los estudiantes al momento de la realización de sus trabajos académicos y en periodos de exámenes.
- Segunda subescala: expediente y perspectivas de futuro (EF). Está provista de 6 ítems (preguntas 16, 17, 18, 19, 20 y 21) que buscan medir el estrés generado por la anticipación de las situaciones problemáticas o académicas futuras.
- Tercera subescala: dificultades interpersonales (DI). Está conformada por 4 ítems (preguntas 6, 8, 12 y 13) que determinan el nivel de estrés que pueden producir posibles problemas o conflictos entre compañeros y docentes, así como lo relacionado con la competitividad entre los estudiantes.
- Cuarta subescala: expresión y comunicación de ideas propias (EC). Consta de 3 ítems (preguntas 2, 3 y 4) que evalúan el estrés en los momentos en que los estudiantes deben exponer y manifestar ideas propias en las aulas universitarias, en presencia tanto de otros compañeros como de los docentes.

b. Evaluación de hábitos de higiene y condiciones socio-demográficas:

- Se les solicitó a los participantes el llenado del Cuestionario de Hábitos de Higiene Oral, que constó de 3 secciones. En la primera sección, debían indicar sus datos personales y el número de créditos que se encontraban cursando en el año académico (aclaración: según lo aprobado por Resolución de Consejo Universitario N.º 480-2018/UNT, para un estudiante de tercer año de Medicina el número total de créditos debe ser de 42, entendiéndose un menor o un mayor número de créditos matriculados como una menor o mayor carga lectiva, respectivamente). En la segunda sección, debían elegir las opciones que mejor representaran sus hábitos de higiene oral actuales. En la tercera, debían completar datos sociodemográficos referidos a los niveles de escolaridad paterna y materna y al promedio del ingreso total (mensual) familiar⁷.
- Respecto de la segunda sección, se consideró que un estudiante tenía «hábitos de higiene oral saludables» cuando obtenía un puntaje de 3 puntos al sumar las dimensiones cepillado dental (2 veces al día o más), uso de hilo dental (al menos una vez al día) y visita al dentista (al menos una vez al año). Respecto de la tercera sección, se establecieron 3 niveles socioeconómicos sobre la base del informe *Nivel Socioeconómico Perú 2021* (fuente: Asociación Peruana de Empresas de Inteligencia de Mercados [APEIM]): nivel 1 o alto, ingresos del grupo familiar promedio de S/12.647 y educación técnica y universitaria completa o incompleta para la madre y el padre; nivel 2 o medio, ingresos familiares promedio de S/6.135 o S/3.184 y educación

media completa e incompleta para madre y padre; nivel 3 o bajo, ingresos promedio de S/2.038 o S/1.242 y educación básica completa e incompleta de los padres⁷.

2. Recolección de muestras de saliva:

- El día anterior a la toma de muestras se les recordó a los estudiantes que no debían cepillarse los dientes ni utilizar ningún tipo de enjuague bucal, labial, bálsamo o crema alrededor de los labios durante al menos 12 h antes de la toma, a fin de evitar la contaminación y la posible alteración de las muestras.
- La recolección de las muestras se realizó en el laboratorio Luis Pasteur de la Sección Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNT.
- Con la finalidad de garantizar el anonimato y distinguir las muestras para el seguimiento de cada caso en particular, los participantes fueron identificados mediante códigos alfanuméricos.
- El procedimiento para la toma de muestras fue el siguiente: a los estudiantes se les solicitó que depositaran aproximadamente 1 ml de saliva en un recipiente recolector estéril para determinar el pH salival mediante el uso de tiras reactivas con papel tornasol (tiras de pH Kimislab®, rango de medición de 1 a 14, precisión > 99%). Luego, se les indicó que efectuaran un enjuague bucal con 20 ml de solución salina fisiológica estéril y lo depositaran en un envase estéril, y se procedió de inmediato a la siembra para el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC).

3. Procesamiento de las muestras:

c. Recuento de UFC bacterianas:

- Se extrajo 0,1 ml de la muestra de enjuague bucal y se colocó en un tubo de ensayo estéril de 13 × 100 previamente esterilizado por autoclave. Luego, se realizaron diluciones seriadas con solución salina fisiológica estéril hasta lograr una dilución de 1/100.
- De la última dilución se tomó 0,1 ml, el cual se depositó sobre una placa de Petri con agar triplicasa de soja caseína y con una espátula de Drigalski, el material de siembra se distribuyó en la superficie uniformemente; luego se incubó a 37 °C durante 24 a 72 h.
- Para realizar el recuento de las UFC/ml, se aplicó la siguiente fórmula:

UFC/ml = (N.º de colonias por placa × FD) / ml de la muestra sembrada,
donde FD fue el factor de dilución.

d. Cultivo de hongos:

- Se extrajo 0,1 ml de la muestra de enjuague bucal y se colocó en un tubo de ensayo de 13 × 100 mm previamente esterilizado. Luego, se realizaron diluciones seriadas con solución salina estéril hasta lograr una dilución de 1/100.
- De la última dilución se tomó 0,1 ml y con una espátula de Drigalski se sembró uniformemente en una placa de Petri con medio Sabouraud glucosa agar, al cual se le añadió un antibiótico de amplio espectro (azitromicina) para inhibir el crecimiento bacteriano.

Tabla 1 Datos sociodemográficos de los participantes

Características de la población muestreada	
Rango de edad (años)	21,7 ± 1,7
Sexo	
Femenino	19 (40,43%)
Masculino	28 (59,57%)
Créditos académicos matriculados	42 (34-49)
Nivel socioeconómico	
Alto	3 (6,38%)
Medio	22 (46,81%)
Bajo	22 (46,81%)
Hábitos de higiene oral	
Sí	26 (55,32%)
No	21 (44,68%)

Posteriormente, se incubó a 35 °C durante 24 a 48 h en condiciones aerobias y se realizó el recuento de UFC/ml.

e. Identificación de colonias de *Candida* spp.:

- Para la identificación de colonias de *Candida* spp., se tomaron en cuenta los siguientes parámetros: color, aspecto, forma.
- Se realizó la prueba de tubos germinales en suero humano a 37 °C por 2-4 h para identificar la especie *C. albicans*. Las colonias que presuntivamente se consideraron del género *Candida* se cultivaron en CHROMagar™.

Análisis estadístico

Los datos reunidos se consignaron en Microsoft Excel v. 2019, desde donde se exportaron al software estadístico Stata 16.1 para su análisis. Se procesaron los datos encriptados numéricamente y se evaluó la normalidad de las variables con la prueba de Shapiro-Wilk.

Además, se construyó un modelo de regresión lineal para analizar la relación entre la variación en la microbiota oral y las puntuaciones del cuestionario CEAU, ajustando por posibles variables de confusión preespecificadas (como edad, sexo, nivel socioeconómico y hábitos de higiene oral). El nivel de significación estadística se fijó en $p < 0,05$.

Resultados

En el estudio participaron 28 hombres (59,57%) y 19 mujeres (40,43%) con edades comprendidas entre 19 y 25 años, todos ellos matriculados para 34 a 49 créditos académicos durante el año analizado. En el ámbito sociodemográfico, se destacó el nivel socioeconómico medio o bajo, con 22 participantes en cada uno (46,81%). Solo 26 (55,32%) estudiantes sí poseían hábitos de higiene oral (tabla 1).

La tabla 2 permite comparar los resultados del recuento de bacterias y de levaduras; asimismo, los valores del pH salival y el puntaje de estrés académico en las 2 fechas en que se efectuaron los muestreos. En la primera toma de muestra, se halló un pH neutro en 37 participantes (78,72%), este porcentaje aumentó a 87,23% en la segunda toma. Los

Tabla 2 Resultados de las evaluaciones efectuadas

Resultados	Primer muestreo (8/11/2022)	Segundo muestreo (15/11/2022)
UFC $\times 10^3$ /ml (bacterias)	5.968 (1.264-21.720)	4.000 (1.424-18.576)
<i>Presencia de levaduras</i>		
Sí	3 (6,39%)	9 (19,15%)
No	44 (93,61%)	38 (80,85%)
UFC/ml (levaduras)	0 (0-8.000)	0 (0-10.000)
<i>pH</i>		
Ácido ($\leq 6,4$)	10 (21,28%)	5 (10,64%)
Neutro (7-7,45)	37 (78,72%)	41 (87,23%)
Alcalino ($\geq 7,55$)	0 (0%)	1 (2,13%)
Puntaje EAU	62,5 $\pm$ 12,3	55,5 $\pm$ 12,3

EAU: estrés académico universitario.

valores de UFC/ml bacterianas y el puntaje de estrés académico fueron mayores en la primera toma de muestra; sin embargo, hubo un mayor número de muestras con presencia de levaduras en la segunda toma.

Respecto al cultivo de levaduras, en la primera toma de muestra se aislaron colonias del género *Candida* en agar Sabouraud (fig. 1A); mediante coloración de Gram se observaron levaduras gram positivas (fig. 1B). Se realizó la prueba de formación de tubos germinales en suero humano (fig. 1C), identificándose *C. albicans*. Asimismo, el cultivo seriado en CHROMagar™ reveló la presencia de *C. albicans* (fig. 2A) en 3 participantes (6,39%); en uno de ellos, además, se detectó *C. tropicalis* (fig. 2B), mientras que en los otros 2 participantes (4,26%) se detectaron colonias no determinadas de *Candida* spp. con pigmentación blanca. En la segunda toma de muestra, en 5 participantes se aislaron colonias del género *Candida* en agar Sabouraud (10,64%) y, además, en otros 4 (8,51%) se aislaron colonias de levaduras no tipificables como *Candida*. Asimismo, de los participantes en los que se identificó *Candida*, 3 de ellos fueron los mismos en la primera muestra y nuevamente se identificó *C. albicans* mediante la prueba de formación de tubos germinales. Posteriormente, en CHROMagar™ se identificó *C. albicans* en 4 de los 5 participantes de los que se habían aislado colonias del género *Candida* en agar Sabouraud y, además, en 2 se encontró al mismo tiempo *C. glabrata*. En un participante del segundo muestreo solo se identificó *C. glabrata* mediante CHROMagar™ (fig. 2C).

En el modelo de regresión lineal multivariable (IC del 95%, $p < 0,003$) que incluyó las variables del puntaje de estrés académico, hábitos de higiene oral y nivel sociodemográfico, el factor que tuvo mayor fuerza de asociación con el resultado del número de colonias bacterianas fue el puntaje para el estrés académico ($p < 0,05$) en la primera toma de muestra (tabla 3). En la segunda toma de muestra, el modelo de regresión lineal fue significativo (IC del 95%, $p < 0,003$), pero ninguna variable mostró fuerte asociación.

Asimismo, teniendo en cuenta las mismas variables, se construyó el modelo de regresión lineal multivariable para los resultados del número de colonias de levaduras (IC del 95%, $p < 0,05$) (tabla 4). La variable que demostró asociación más significativa fue el nivel socioeconómico en el primer muestreo ($p < 0,03$) y el nivel socioeconómico bajo ($p < 0,01$) en el segundo.

Discusión

El recuento de UFC/ml de la microbiota oral bacteriana evidencia una notable variación entre la primera toma de muestra (frente al evento estresor específico) y la segunda, una semana después de aquel. Los recuentos bacterianos fueron mayores en la primera toma que en la segunda y se obtuvo una asociación estadísticamente significativa con los puntajes de estrés académico ($p = 0,005$; $p < 0,05$) obtenidos en la primera semana, pero no así con el nivel socioeconómico, la higiene oral o el sexo.

Respecto a los niveles de estrés, los resultados del presente trabajo indican un mayor índice de estrés en la primera toma de muestra (puntaje EAU = 62,5 $\pm$ 12,3), cuando se presentó el evento estresor, comparado con el registrado en la segunda semana (puntaje EAU = 55,5 $\pm$ 12,3), momento en el que el factor estresante del examen ya no estuvo presente. Estos datos son compatibles con lo observado por Marucha et al.¹⁸, quienes evidenciaron que los estudiantes experimentan mayores niveles de estrés durante el período de exámenes. Sin embargo, es importante precisar que esto se refiere a un estrés de tipo agudo, cuyos efectos en la fisiología son temporales y a corto plazo, como resultado de factores estresantes inmediatos o situaciones desafiantes⁴. Esto se debe a que la respuesta de lucha o huida del cuerpo provoca cambios fisiológicos temporales; asimismo, en los trabajos realizados por Silva-Ramos et al.²⁹ y Álvarez et al.¹, se estableció que los exámenes son uno de los principales factores que desencadenan estrés agudo académico en estudiantes universitarios debido a diversos estresores asociados a la realización del examen, como la calificación o el no haber estudiado. Específicamente en estudiantes de Medicina, el trabajo realizado por Lemos et al.¹⁶ identifica a los exámenes como el principal factor estresor. El presente estudio no evaluó el efecto de la exposición prolongada ni repetida al estrés académico intenso y, dado que existe evidencia de que el estrés crónico (exposición continua por más de 15 días) o agudo episódico (exposición reiterada) puede provocar otro tipo de cambios a mediano o largo plazo^{4,15}, recomendamos interpretar nuestros resultados con cautela y realizar estudios de cohorte más prolongados para describir estos efectos.

Es importante destacar que existió también un cambio de pH al comparar los muestreos, con un valor promedio más

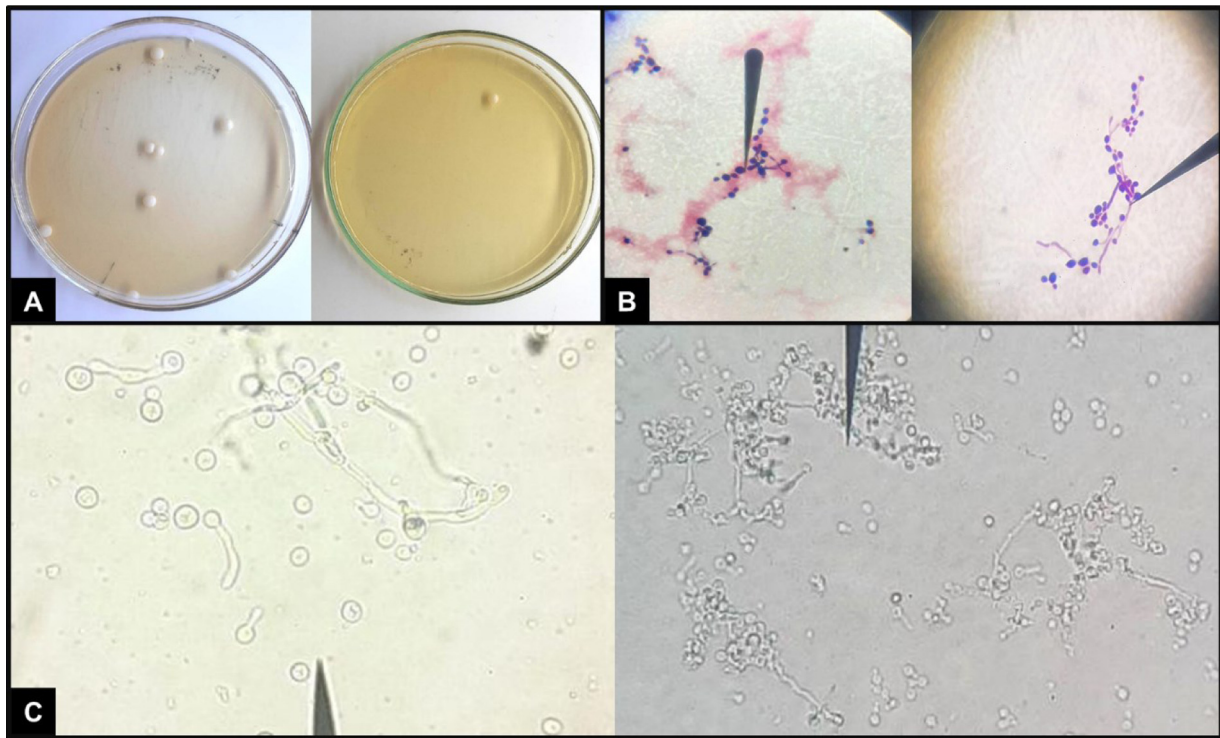


Figura 1 Identificación de *Candida* spp. A) Colonias de levaduras compatibles con *Candida* spp. en agar Sabouraud. B) Tinción de Gram (40×): blastoconidias y pseudohifas gram positivas de levaduras. C) Identificación de *C. albicans* por desarrollo de tubos germinales en la prueba de filamentación en suero humano (40×).

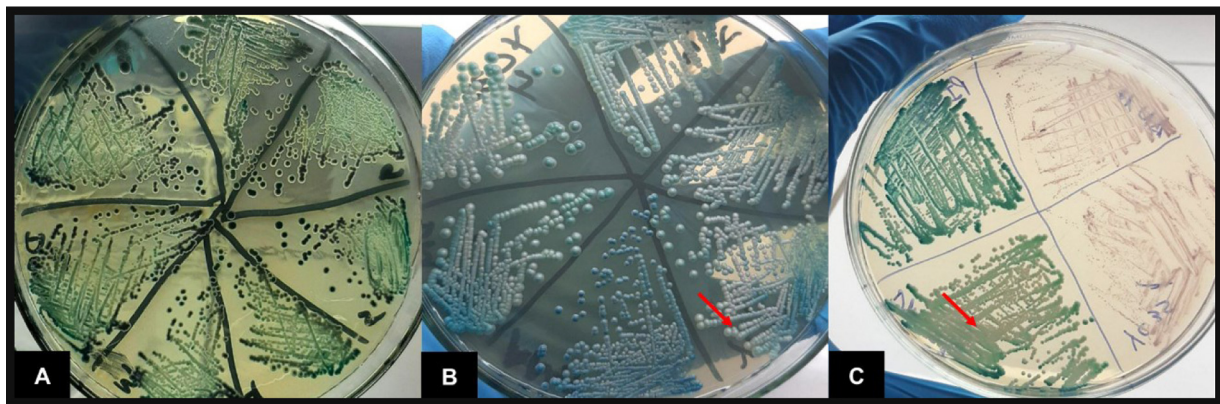


Figura 2 Identificación de especies de *Candida*. A) Colonias de *C. albicans* de pigmentación verde en CHROMagar™. B) Colonias de *C. tropicalis* de pigmentación azul en CHROMagar™. C) Colonias de *C. glabrata* de pigmentación lila en CHROMagar™. Las flechas en la [figura 2B](#) y C indican colonias no determinadas de *Candida* spp. de pigmentación blanca en CHROMagar™.

ácido (media de pH = 6,79) en la primera toma que en la segunda, momento en que el pH se aproximó más a la neutralidad (media de pH = 6,91); incluso un participante tuvo un pH alcalino (pH = 8). Estos resultados son compatibles con lo hallado por Zeballos et al.³³, quienes observaron un aumento significativo de la microbiota oral en respuesta al estrés, principalmente asociado a la acidificación del pH salival, lo que coincide con los resultados del presente estudio.

Por otro lado, en el trabajo de Mejía et al.¹⁹ se establece una relación tiempo-pH salival en estudiantes universitarios, donde se observa que cuanto mayor sea el ciclo o la etapa de la carrera que estén cursando, mayor es la acidificación

del pH salival. En esta misma línea, los estudios de Zeballos et al.³³ y de Villacreses et al.³¹ demuestran que el descenso del pH se asocia significativamente con un aumento cuantitativo en la población bacteriana oral, pero también a una variación cualitativa, es decir, a una mayor diversidad taxonómica, dado que favorece el crecimiento de bacterias ácido-resistentes y acidogénicas como *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Actinomyces* spp. o *Veillonella* spp. y, por lo tanto, predispone al hospedero a desarrollar afecciones bucodentales como caries o gingivitis.

La acidificación del pH salival podría estar asociada a la producción de ácido como consecuencia del metabolismo

Tabla 3 Resultado del modelo de regresión lineal multivariable para recuento bacteriano

UFC.B1	Coef.	Error estándar	t	p > /t/	IC de 95%	
CEAU	146.767,5	49.986,98	2,94	0,005	45.889,66	247.645,3
Higiene oral	-1.657.442	1.360.151	-1,22	0,230	-4.402.337	1.087.453
<i>Nivel socioeconómico</i>						
Medio	-1.195.518	1.263.390	-0,95	0,349	-3.745.143	1.354.107
Bajo	-3.343.842	2.622.132	-1,28	0,209	-8.635.518	1.947.834
<i>UFC.B2</i>						
CEAU	79.246,74	51.213,92	1,55	0,129	-24.107,13	182.600,6
Higiene oral	-1.548.464	1.307.173	-1,18	0,243	-4.186.446	1.089.518
<i>Nivel socioeconómico</i>						
Medio	-1.232.692	1.290.581	-0,96	0,345	-3.837.189	1.371.805
Bajo	-2.840.634	2.542.240	-1,12	0,270	-7.971.082	2.289.814

CEAU: cuestionario de estrés académico universitario; UFC.B: unidades formadoras de colonias bacterianas.

Tabla 4 Resultado del modelo de regresión lineal multivariable para el recuento de levaduras

UFC.L1	Coef.	Error Estándar	t	P > /t/	[IC 95%]	
CEAU	-3,405995	71,45692	-0,05	0,964	-201,8022	194,9902
Higiene oral	-8.054,496	2.409,275	-3,34	0,029	-14.743,72	-1.364,277
<i>Nivel socioeconómico</i>						
Medio	7.019,074	1.938,578	3,62	0,022	1.636,719	12.401,43
Bajo	7.121,253	3.816,629	1,87	0,135	-3.475,408	17.717,91
<i>UFC.L2</i>						
CEAU	60,60606	73,75903	0,82	0,457	-144,1818	265,394
Higiene oral	-963,6364	1497,508	-0,64	0,555	-5.121,386	3.194,113
<i>Nivel socioeconómico</i>						
Medio	1.896,97	1.582,986	1,20	0,297	-2.498,105	6.292,045
Bajo	9.351,515	1.892,031	4,94	0,008	4.098,396	14.604,63

CEAU: cuestionario de estrés académico universitario; UFC.L: unidades formadoras de colonias de levaduras.

de microorganismos fermentadores de la cavidad oral. La proliferación de dichas bacterias podría obedecer a la desregulación fisiológica causada por el estrés, con una alteración significativa de los niveles de catecolaminas y corticoides, que, a su vez, conlleva cambios significativos en la producción de citocinas y la funcionalidad del sistema inmunitario para el control microbiano de la cavidad oral^{20,24}. En nuestro estudio, se planteó la determinación de estrés percibido mediante un cuestionario dirigido; sin embargo, sería recomendable en el futuro usar biomarcadores como los niveles de cortisol, el ritmo cardíaco y la presión sanguínea para medir fisiológicamente el estrés.

Además, hallamos relación significativa de los niveles socioeconómicos bajo y medio ($p < 0,01$) con el recuento de levaduras (IC del 95%, $p < 0,003$); esta relación indica que mientras más bajo es el nivel socioeconómico, más probable es hallar presencia de levaduras, tal como lo describen Gomes et al.¹⁰. Dichos investigadores hallaron también una relación positiva entre estas variables, ya que detectaron mayor presencia de *Candida* spp. en los cultivos realizados en niños sanos de bajo estrato socioeconómico.

Este estudio no encontró diferencias significativas respecto de los hábitos de higiene oral y los recuentos microbianos. Es importante destacar que, aun cuando alrededor del 44% de los participantes reportaron no tener una

higiene oral adecuada, el acceso a la educación sobre los correctos hábitos de higiene oral y a los servicios de salud oral por parte de los estudiantes de Medicina podría tener un impacto diferencial respecto de la población general³². Se recomienda evaluar de manera objetiva mediante exámenes odontológicos el estado de la higiene oral, y no solo a través de encuestas, a fin de poder obtener datos más exactos. También es necesario señalar que en el presente estudio, la muestra estuvo limitada a un rango etario estrecho ($23,7 \pm 1,7$ años), por lo que el resultado podría haber estado influido por los comportamientos y los hábitos alimenticios e higiénicos de este grupo etario en especial. Se recomienda considerar otros grupos etarios en futuros trabajos y, además, evaluar la dieta de los participantes, ya que diversos estudios indican que podría existir una relación directa entre el régimen alimenticio y la conformación del microbioma oral^{13,27}.

En esta investigación se encontró que en situación de estrés académico, la prevalencia de levaduras en las mujeres fue mayor que en los hombres (10,5% vs. 3,6%), diferencia que se mantuvo una semana después (26,3% vs. 14,2%). Esto es concordante con los resultados de Hechevarría et al.¹², quienes refieren que el sexo femenino es un factor que predispone a la presencia de levaduras debido a

la influencia endocrina producida por el ciclo menstrual en el crecimiento de levaduras.

El recuento de levaduras arrojó valores discretos tanto en la primera como en la segunda toma de muestra; además, se identificó que la especie más frecuente fue *C. albicans* seguida de *C. tropicalis* y *C. glabrata*, lo cual guarda relación con lo que señalan los datos bibliográficos actuales, que indican que el agente más frecuente de candidiasis oral es *C. albicans*, seguida de otras especies de *Candida*²⁵, y el segundo y el tercer lugar se disputan entre *C. tropicalis* y *C. glabrata*³⁰. Estudios actuales ponen de manifiesto que el aislamiento de estas 2 últimas especies es cada vez más frecuente y que *C. tropicalis* es la *Candida* no *C. albicans* (NCAC) con más prevalencia en América Latina, en tanto que *C. glabrata* lo es en América del Norte y Europa²². Este hallazgo es de especial importancia clínica y epidemiológica, ya que se ha evidenciado una asociación entre la presencia de *C. tropicalis* con el desarrollo de enfermedades gastrointestinales como colitis o enfermedad de Crohn⁶; por otro lado, *C. glabrata* constituye un agente resistente a diversos fármacos antimicóticos como el fluconazol y, por lo tanto, el desarrollo de micosis por esta especie fúngica constituye un reto terapéutico^{8,11}.

Si bien en el presente estudio no se determinó una asociación significativa entre la variación del pH y la presencia de levaduras en la cavidad oral, diversos factores predisponentes como la inmunosupresión, la mala higiene oral o el uso prolongado de antibióticos de amplio espectro^{26,30} podrían asociarse a este hallazgo. En este sentido, se recomienda añadir el estudio de estas variables en futuros trabajos, especialmente la valoración del estado inmunitario de los participantes en situaciones de estrés agudo, dado que se ha demostrado que el estrés psicológico suprime las respuestas inmunitarias mediadas por células, lo que facilita la proliferación de *Candida* spp.

En conclusión, los recuentos de bacterias y el puntaje de estrés académico fueron mayores en la primera toma de muestra, realizada h antes de un examen; por otra parte, el número de levaduras fue mayor en la segunda toma de muestra, identificándose colonias de *Candida* spp. entre ellas *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* y NCAC. Asimismo, el mayor recuento de UFC/ml de bacterias se asoció significativamente con el estrés académico percibido, mientras que el recuento de levaduras se asoció con el nivel socioeconómico de los participantes. La variación de la microbiota oral no se asoció significativamente a los hábitos de higiene oral, al sexo ni a la variación del pH.

Identificadores ORCID

Jussara Malo-Castillo: 0000-0002-7107-9567
 Paula Ishikawa-Arias: 0000-0003-2333-1972
 Harold Jimenez-Alvarez: 0000-0002-2384-3620
 Criss Ocampo: 0000-0003-0259-4925
 Cristhian Guevara-Coronel: 0000-0001-6109-2963a,c
 Leonardo Ledesma Chavarria: 0000-0001-8326-9811
 Meilyn Lujan-Benites 0000-0001-5639-7455
 Cristhian Terrones: 0000-0002-5519-7125
 Christian Eduardo Vilca Avalos: 0000-0002-6117-2143
 Maria Soledad Ayala Ravelo: 0000-0002-2059-5326

Financiación

Autofinanciado por los autores.

Consideraciones éticas

El desarrollo del estudio se basó en la Declaración de Helsinki, puesto que se respetó el derecho de mantener en reserva la identidad de los participantes, también en conformidad con el Reglamento de la Ley N.º 29733, Ley de Protección de Datos Personales (DE Mº 003-2013-JUS). Además, se evitaron los posibles efectos negativos que pudieran perjudicarla integridad de las personas. Se informó a los participantes de los objetivos del estudio y se les presentó el consentimiento informado. Luego de realizado el estudio, se les brindó los resultados confidencialmente a solicitud. El protocolo de investigación y el modelo de consentimiento informado recibieron la aprobación del Comité de Ética del Comité Permanente de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo (Of. N: 319-2022-UNT-FM-C.E).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Agradecimientos

Al personal de laboratorio, en especial al Mg. Javier Solar Anticona y a la Lic. Tania Mendoza Mariños, por el apoyo brindado en el procesamiento de las muestras biológicas.

Bibliografía

1. Álvarez HJ, Aguilar P, Fernández JMC, Salguero JM, Pérez-Gallardo GDER. El estrés ante los exámenes en los estudiantes universitarios: Propuesta de intervención. *INFAD*. 2013;2:179–88.
2. Baumgardner DJ. Oral fungal microbiota: To thrush and beyond. *J Patient Cent Res Rev*. 2019;6:252–61.
3. Bertelsen RJ, Barrionuevo AMP, Shigdel R, Lie SA, Lin H, Real FG, Ringel-Kulka T, Åström AN, Svanes C. Association of oral bacteria with oral hygiene habits and self-reported gingival bleeding. *J Clin Periodontol*. 2022;49:768–81.
4. Chu B, Marwaha K, Sanvictores T, Awosika AO, Ayers D. Physiology. Stress Reaction. StatPearls [Internet]. 2024. [Consultado 31 Oct 2024]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541120/>.
5. Cruz Q, Díaz SM, Arias SP, Mazón SDBGM. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Rev Cubana Estomatol*. 2017;54:84–99.
6. Di Martino L, De Salvo C, Buela KA, Hager C, Ghannoum M, Osme A, Buttò L, Bamias G, Pizarro TT, Cominelli F. *Candida tropicalis* infection modulates the gut microbiome and confers enhanced susceptibility to colitis in mice. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2022;13:901–23.
7. Espinoza SI, Muñoz PC, Lara MM, Uribe CJ. Hábitos de higiene oral en estudiantes de Odontología de la Universidad de Chile. *PIRO*. 2010;3:11–8.
8. Frías-De-León MG, Hernández-Castro R, Conde-Cuevas E, García-Coronel IH, Vázquez-Aceituno VA, Soriano-Ursúa MA, Farfán-García ED, Ocharán-Hernández E, Rodríguez-Cerdeira

- C, Arenas R, Robledo-Cayetano M, Ramírez-Lozada T, Meza-Meneses P, Pinto-Almazán R, Martínez-Herrera E. *Candida glabrata* antifungal resistance and virulence factors, a perfect pathogenic combination. *Pharmaceutics*. 2021;13:1529.
9. García-Ros R, Pérez-González F, Pérez-Blasco J, Natividad LA. Evaluación del estrés académico en estudiantes de nueva incorporación a la universidad. *RLP*. 2012;44:143–54.
10. Gomes MB, Ribeiro ER, Carvalho WB, Palomari DS, Gonçalves RB, Höfling JF. Multilocus enzyme electrophoresis typing of *Candida albicans* populations isolated from healthy children according to socioeconomic background. *Rev Bras Epidemiol*. 2005;8:51–66.
11. Hassan Y, Chew SY, Than LTL. *Candida glabrata*: Pathogenicity and resistance mechanisms for adaptation and survival. *J Fungi*. 2021;7:667.
12. Hechevarria BM, Venzant SZ, Carbonell MR, Carbonell DG. Salud bucal en la adolescencia. *MEDISAN*. 2013;17:117–25.
13. Ibarlucea-Jerez M, Monnoye M, Chambon C, Gérard P, Licandro H, Neyraud E. Fermented food consumption modulates the oral microbiota. *NPJ Sci Food*. 2024;8:1–10.
14. Jentsch HF, März D, Krüger M. The effects of stress hormones on growth of selected periodontitis related bacteria. *Anaerobe*. 2013;24:49–54.
15. Leigh SJ, Uhlig F, Wilmes L, Sanchez-Diaz P, Gheorghe CE, Goodson MS, Kelley-Loughnane N, Hyland NP, Cryan JF, Clarke G. The impact of acute and chronic stress on gastrointestinal physiology and function: A microbiota–gut–brain axis perspective. *J Physiol*. 2023;601:4491–538.
16. Lemos M, Heneao-Pérez M, López-Medina DC. Estrés y salud mental en estudiantes de Medicina: relación con afrontamiento y actividades extracurriculares. *Archiv Med*. 2018;14:3.
17. Martínez M, Postolache TT, García-Bueno B, Leza JC, Figuero E, Lowry CA, Malan-Müller S. The role of the oral microbiota related to periodontal diseases in anxiety mood and trauma- and stress-related disorders. *Front Psychiatry*. 2022;12:814177.
18. Marucha PT, Kiecolt-Glaser JK, Favagehi M. Mucosal wound healing is impaired by examination stress. *Psychosom Med*. 1998;60:362–5.
19. Mejía MJS. Relación entre el estrés académico y potencial hidrógeno salival en estudiantes de Estomatología de la Universidad Señor de Sipán 2018 [Internet] [tesis de titulación]. [Pimentel]: Universidad Señor de Sipán. 2018. [Consultado 29 Nov 2022]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12802/5697>.
20. Mestre JK, Duarte SL, Vanegas ML, Harris RJ, Fortich MN, Olier-Castillo D. Niveles de citocinas (IL1 β IL 6 y TNF- α) en estudiantes con estrés académico. *Salud Uninorte*. 2019;35:29–39.
21. Park JB, Han K, Park YG, Ko Y. Association between socioeconomic status and oral health behaviors: The 2008-2010 Korea national health and nutrition examination survey. *Exp Ther Med*. 2016;12:2657–64.
22. Pemán J, Quindós G. Aspectos actuales de las enfermedades invasivas causadas por *Candida* y otros hongos levaduriformes. *Rev Iberoam Micol*. 2016;33:133–9.
23. Peng X, Cheng L, You Y, Tang C, Ren B, Li Y, Xu X, Zhou X. Oral microbiota in human systematic diseases. *Int J Oral Science*. 2022;14:1–11.
24. Rivera-Reza DI, Villanueva-Vilchis MC, Gaitán-Cepeda LA. Impacto de enfermedades orales asociadas a estrés sobre la calidad de vida. *ODOVTOS-Int J Dent Sc*. 2020;22:143–56.
25. Rodríguez OJ, Miranda TJ, Morejón LH, Santana GJC. Candidiasis de la mucosa bucal: revisión bibliográfica. *Rev Cubana Estomatol*. 2002;39:187–233.
26. Sánchez-Vargas LO, Pérez-Ríos P, Romo-García J, Coronado Izquierdo FP, Hidalgo-Loperena H, Franco-Martínez F. Determinación de pH salival y cultivo en pacientes con candidiasis bucal VIH positivos y VIH negativos. *Rev Iberoam Micol* [Internet]. 2002;19:155–60. [Consultado 29 Nov 2022]. Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2002-19/155160.pdf>.
27. Santonocito S, Giudice A, Polizzi A, Troiano G, Merlo EM, Sclafani R, Grosso G, Isola G. A cross-talk between diet and the oral microbiome: Balance of nutrition on inflammation and immune system's response during periodontitis. *Nutrients*. 2022;14:2426.
28. Selye H. The evolution of the stress concept: The originator of the concept traces its development from the discovery in 1936 of the alarm reaction to modern therapeutic applications of syntoxic and catatonic hormones. *Am. Sci*. 1973;61:692–9.
29. Silva-Ramos MF, López-Cocotle JJ, Meza-Zamora MEC. Estrés académico en estudiantes universitarios. *Investig Cienc*. 2020;28:75–83.
30. Tapia PC. *Candida glabrata*. *Rev Chil Infect*. 2008;25:293.
31. Villacreses M, Camaño ME, Granda CLM, Rodríguez LACY. El pH salival y microbiota oral: influencia en la salud bucodental de mujeres de 45 a 55 años. *Bol Malariol Salud Ambient*. 2021;61:642–9.
32. Xiao J, Fogarty C, Wu T, Alkhers N, Yan Zeng Y, Thomas M, Youssef M, Wang L, Cowen L, Abdelsalam H, Nikitkova A. Oral health and *Candida* carriage in socioeconomically disadvantaged US pregnant women. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2019;19:480, <http://dx.doi.org/10.1186/s12884-019-2618-7>.
33. Zeballos S, Siles I, Siles J. Influencia del estrés académico percibido, sobre la calidad de la microbiota oral y el pH salival. *Gac Med Bol*. 2019;42:112–6.
34. Zhang X, Gao F, Kang Z, Zhou H, Zhang J, Li J, Yan J, Wang J, Liu H, Wu Q, Liu B. Perceived academic stress and depression: The mediation role of mobile phone addiction and sleep quality. *Front Public Health*. 2022;10:760387, <http://dx.doi.org/10.3389/fpubh.2022.760387>.