

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS



EL STREPTOCOCCUS MUTANS
Y SU RELACION CON LA CARIES

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A
AGUSTIN RUIZ CABRERA**



MEXICO, D. F.

1960



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

.

Capítulo		Pag.
I	INTRODUCCION	1
II	MATERIALES Y METODOS	20
III	RESULTADOS	33
IV	DISCUSION Y CONCLUSIONES	46
V	RESUMEN	54
VI	LITERATURA CITADA	56

.

INTRODUCCION

La cavidad oral es una región del cuerpo en la cual se encuentran diversos tipos de microbios, establecidos principalmente en la saliva, lengua, amígdalas, surco gingival y placa dental, además de otras zonas de la mucosa oral. El tipo y cantidad de bacterias que se encuentran en la boca de un individuo es diferente en relación a los hábitos alimenticios, a la edad e inclusive a la hora del día en la cual se toma la muestra (Ardim, 1959).

Con respecto a la adquisición de la flora bucal, es importante mencionar que los fétos son estériles cuando se encuentran en el útero; sin embargo, existe la posibilidad de que al nacer se contaminen al pasar por la vagina de la madre y aún cuando esto no suceda, en un par de días ya se pueden encontrar bacterias en la boca.

A los tres meses, la cavidad oral soporta una microflora estable, que al año se encuentra fundamentalmente compuesta por: Streptococcus, Staphylococcus, Veillonella y Neisseria; además se han aislado en un 50% de los casos Actinomyces, Mycardia, Lactobacillus y Fusobacterium; y en porcentajes inferiores Bacteroides, Leptotrichiae, Corynebacterium y bacterias coliformes (Holte, 1971).

Asimismo, destaca el hecho de que los Streptococcus predominan numéricamente y aún cuando la flora es de tipo aerobia en el período que antecede a la dentición, cambia a una

flora predominantemente facultativa en el periodo temprano de la misma; sin embargo, finalmente es substituida de manera gradual por una flora de tipo anaerobio obligada, aunque es importante considerar que las bacterias facultativas se encuentran presentes a cualquier edad (Gordon y Gibbons, 1966).

En las piezas dentales existen zonas que no reciben la acción limpiadora de la lengua, de la saliva y de la musculatura bucal; esas zonas son las depresiones, fisuras oclusivas, superficies labiales, bucales y linguales de los dientes situados en forma adyacente a las encías, y son los lugares en donde se establece la placa dento-bacteriana, constituida principalmente por bacterias, partículas de alimentos, proteínas salivales y otros detritos bucales con capacidad adhesiva (Bayona, 1972).

La placa dento-bacteriana tiene una variedad estable de bacterias, las que posteriormente a su aislamiento se han identificado y cuantificado, encontrándose que 70% del volumen de esta placa representa 2.5×10^{11} bacterias en cada gramo de peso húmedo, de las cuales 4.6×10^{10} y 2.5×10^{10} son anaerobios y aerobios viables respectivamente (Mc Dougal, 1963; Mandel, 1966).

Wöhler (1958) y Ritz (1967), han reportado los siguientes valores:

<u>Streptococcus</u> (facultativos)	278
<u>Difteroides</u> (facultativos)	238
<u>Difteroides</u> (anaerobios)	188
<u>Peptoestreptococcus</u>	138
<u>Vellonella</u>	68
<u>Bacteroides</u>	48
<u>Fusobacterium</u>	48
<u>Neisseriae</u>	38
<u>Vibrio</u>	28

Los aislamientos de Lactobacillus se encontraron con un valor menor al 18 y el Streptococcus salivarius no fue registrado en los aislamientos de la placa dento-bacteriana; - aún cuando en la lengua tiene el 218 y en la saliva del 47 al 1008 del total de Streptococcus aislados (Krasse, 1954).

Por otro lado, Bagnall (1950) define a la caries como una enfermedad que destruye los dientes del hombre y los de otras formas de vida que posean dentición calcificada y Burnett (1975) indica que además de ser un proceso químico-biológico irreversible se caracteriza por la disolución desmineralizadora de los componentes inorgánicos del diente y de la amazon orgánica residual. La etiología de la caries se encuentra íntimamente asociada a la flora bucal microbiana. La ca -

ries se inicia externamente en las superficies expuestas del diente y puesto que el esmalte es normalmente el único tejido dental expuesto en la cavidad oral, el proceso se inicia generalmente en éste. Asimismo, durante el curso de ciertos tipos de anomalías parodontales, en donde la membrana periodontal - está separada del cemento, sin retroceso de la gingival, es posible que el proceso cariogénico se inicie en el cemento; sin embargo, el proceso de caries se inicia con más frecuencia en áreas del esmalte de la corona, en donde la saliva y los residuos alimenticios que sedimentan propician las condiciones favorables para que la flora bucal microbiana pueda crecer y desarrollarse, como sucede en las depresiones, en fisuras y en las áreas interproximales de los dientes. Esta suma de eventos conforman un proceso armónico general en el cual la actividad microbiana oral participa en la destrucción del esmalte. En el proceso de caries del esmalte la causa fundamental es la descalcificación ácida, consecuencia de la actividad metabólica de microorganismos durante la fermentación de carbohidratos (Burnett, 1975).

Durante el proceso cariogénico, la primera observación que indica destrucción, es la pérdida del brillo y de la transparencia que existe en la superficie del esmalte; Además, en cortes histológicos se observa que la caries se inicia como una pequeña depresión en la que se asientan un gran número

de microorganismos; en la cual el esmalte presenta una desol
ración mas atenuada y similar a la causada por la acción de -
 la descalcificación ácida *in vitro*. Cuando el esmalte tiene
 cambios blanquecinos suaves presenta desorganización prismáti
ca y al progresar la lesión dichos prismas se rompen, debido
 en parte a la invasión de microorganismos, y por otro lado a
 la destrucción de la substancia interprismática. Como conse -
 cuencia de lo anterior, se produce un lavado por fluidos buca
les con pérdida de los prismas quedando únicamente cavidades
 (Lazzari, 1969).

Teorías de la caries

Con el objeto de explicar el origen, actividad y pro -
 greso de la caries dental, se han enunciado una serie de teo -
 rías que aún conservan cierta validez en sus postulados, que
 se apoyan principalmente en las características químico-para -
 siticas, proteolítica y de proteólisis-quelación de la caries
 dental (Miller, 1890; Gottlieb, 1944; Schatz, 1959).

En términos generales, dichos postulados están de acuerd
do en que la enfermedad implica la disolución del esmalte dental;
 sin embargo, el lugar del inicio y la forma en que el
 método de destrucción se lleva a cabo, contienen puntos de -
 controversia.

En relación con la disolución del esmalte en condicio-

nas ácidas, neutras o alcalinas, se ha propuesto una serie de mecanismos (Lazzari, 1969). Pruebas procedentes de estudios morfológicos, biofísicos y bioquímicos cuidadosamente controlados, apoyan la conclusión de que en la caries en desarrollo el esmalte se vuelve soluble antes de perderse la matriz. Mediciones directas de pH indican que la disolución producida en la caries ocurre en un ambiente ácido que persiste en todas las etapas y en todos los sitios de la lesión cariosa. - Cuando se mide su valor in situ es de un promedio de 5.5 y hay un retorno a la acidez incluso después de repetir el amortiguamiento en la lesión; lo anterior podría indicar que el ácido se forma continuamente o que posiblemente en la profundidad de la lesión hay una gran reserva de este que difunde - constantemente a la superficie.

Al enumerar las pruebas que sugieren que la caries es un proceso de desmineralización, se destaca que:

1).- Los cambios morfológicos característicos de las lesiones iniciales pueden producirse en esmalte sano cuando se ataca con ácidos débiles.

2).- No se ha demostrado la degradación bacteriana de la matriz orgánica en esmalte puro.

3).- La matriz de esmalte desmineralizado es tan frágil que se destruye fácilmente por leves traumatismos mecánicos, lo que evita la necesidad de postular la degradación de la matriz.

En lo que se refiere al lugar de inicio y a la forma en que el método de destrucción se lleva a cabo, la Escuela Químico-Parasítica de Miller (1890), indica que la desintegración dental es una enfermedad constituida por dos etapas netamente marcadas; descalcificación y disolución del tejido reblandecido; sin embargo, en el caso del esmalte significa prácticamente su total destrucción. Asimismo, sugiere que todos los microorganismos de la boca humana que posean la propiedad de realizar una fermentación ácida de los alimentos, podrían participar en la primera etapa de la caries dental y todos los que posean una acción peptonizante o digestiva sobre sustancias albuminosas, podrían intervenir en la segunda. Por otro lado, Miller (1900), descubrió que la iniciación y el progreso de una lesión de caries requieren de la fermentación de azúcar en el sarro dental o debajo del mismo, de la producción in situ de ácido láctico y de otros ácidos débiles. La caries fue identificada con una serie específica de reacciones, basadas en la difusión de sustancias por el esmalte. La penetración de caries, se atribuyó a cambios en las propiedades físicas y químicas del esmalte, durante la vida del diente, y además a la naturaleza semipermeable del esmalte en el diente vivo. La dirección y velocidad de migración de sustancias por la estructura del diente, están influenciadas por la presión de difusión en el caso de partículas sin carga; las -

líneas de difusión se localizan principalmente en las vainas de barras e interbarras, formadas por cristales de hidroxiapatita con relativamente poca materia orgánica. Las líneas de Retzius, podrían servir también como una guía para la difusión

Cuando sucede una migración iónica de la saliva al esmalte, los cristales de hidroxiapatita reaccionan con los iones de la sustancia que se difunde, volviéndose más estables o más solubles, según los iones de que se trate. La reacción con iones de calcio y fosfato tienden a obstruir las vías de difusión; la substitución de iones hidroxilo por iones fluorono, en los cristales de hidroxiapatita origina un compuesto más estable y menos soluble. La reacción de la hidroxiapatita con los iones hidrógeno presentes en las sustancias difusoras ácidas, ocasiona la formación de agua, fosfatos solubles y la destrucción de la membrana del esmalte.

Por otro lado, la teoría Proteolítica de Gottlieb (1944), considera a la matriz del esmalte como la llave para el inicio y penetración de la caries dental. El mecanismo se atribuye a microorganismos que degradan proteínas, los cuales invaden y destruyen los elementos orgánicos de esmalte y dentina. La digestión de la materia orgánica va seguida de disolución física, ácida o de ambos tipos, de las sales inorgánicas. Asimismo, señala que la caries empieza en las laminillas

de esmalte o vainas de prismas sin calcificar, que carecen de una cubierta cuticular protectora en la superficie, continuándose a lo largo de estos defectos estructurales, destruyéndose las proteínas mediante enzimas liberadas por los microorganismos invasores; los prismas calcificados son atacados y necrosados, apareciendo entonces un pigmento amarillo, consecuencia metabólica de los microorganismos proteolíticos, al degradar a las proteínas; existiendo además una producción restringida de ácido, esto sugiere que cuando no se presenta, únicamente la degradación proteica puede causar caries. Si sucediera lo contrario, es decir, la producción de ácido sin degradación de proteína, se contribuiría al desarrollo del esmalte transparente al provocar un desplazamiento interno de sales de calcio hacia las capas profundas, en donde precipitarían formando esmalte transparente hipercalcificado.

De esta forma, por la acción de las enzimas liberadas por bacterias proteolíticas, el mecanismo de caries se identifica como una despolimerización de la matriz orgánica del esmalte y de la dentina.

Con respecto a la teoría de la Proteolisis-Quelación (Schatz, 1959), es importante considerar que la teoría proteolítica fue ampliada con el fin de incluir la quelación como una explicación de la destrucción concomitante del mineral y de la matriz orgánica del esmalte. Esta teoría atribuye la

etiología de la caries a dos reacciones simultáneas e interrelacionadas, que implican la destrucción microbiana de la matriz orgánica y la pérdida de hidroxiapatita por la acción de agentes de quelación orgánicos, algunos de los cuales se originan como productos de descomposición de la matriz.

El ataque bacteriano se inicia por microorganismos que rotolíticos, los cuales descomponen proteínas y otras substancias orgánicas en el esmalte, la degradación enzimática de los elementos proteínicos y carbohidratos, origina substancias que forman quelatos con calcio y disuelven el fosfato de calcio insoluble.

La quelación, puede causar a veces solubilización y transporte de material mineral de ordinario insoluble, que se efectúa por la formación de enlaces covalentes coordinados e interacciones electrostáticas entre el mineral y el agente de quelación. Los agentes de quelación de calcio, entre los que figuran aniones, ácidos, aminas, péptidos, polifosfatos y carbohidratos, están presentes en saliva y material del sarro y por ello se concibe puedan contribuir al proceso de caries.

Asimismo, dicha teoría sostiene que los microorganismos proteolíticos, son en general más activos en el ambiente alcalino; por consecuencia la destrucción del diente puede ocurrir en un pH de este tipo. La microflora bucal productora

de ácidos, en lugar de producir caries, en realidad protege a los dientes por dominar e inhibir las formas proteolíticas. Las propiedades de quelación de compuestos orgánicos se alteran en ocasiones por fluor, el cual puede formar enlaces covalentes con ciertos metales. Así los fluoruros pueden afectar los enlaces entre la materia orgánica y la materia inorgánica del esmalte, de tal manera que confiere resistencia contra la caries.

De las teorías anteriormente descritas, las dos últimas no explican ciertas características clínicas de la caries dental; algunas de estas podrían incluir, la localización en lugares específicos del diente, su relación con los hábitos de alimentación, la prevención dietética de la caries, la producción de caries en animales de laboratorio utilizando dietas ricas en carbohidratos y su prevención por inhibidores glucolíticos.

Por otra parte, no se ha demostrado la existencia de un mercañismo que explique de que forma la proteólisis puede destruir el tejido calcificado, excepto por la formación de productos finales ácidos. Se ha calculado que la cantidad total de ácido potencialmente disponible a partir de la proteína presente en el esmalte, solo puede disolver una pequeña fracción del total de sales de calcio contenidos en éste.

Asimismo, no existen pruebas químicas sobre la pérdida

temprana de materia orgánica en la caries del esmalte, como tampoco se han aislado formas proteolíticas de lesiones tempranas del esmalte.

Lazzari (1969) enunció que antes de que se despolimerizen e hidrolizen las proteínas del diente, específicamente las glucoproteínas, es necesario la desmineralización para dejar expuestos los enlaces de la proteína unidos a la fracción inorgánica.

Los exámenes realizados utilizando microscopía electronica, demuestran una estructura orgánica filamentosa, dispersa en el mineral del esmalte en posición interprismática e intraprismática (Bergman y Engfeldt, 1954); estas fibrillas, miden aproximadamente 50 Å de espesor y a menos que se desmineralize primero la substancia inorgánica adyacente; el espacio existente entre las fibrillas difícilmente sería suficiente para la penetración bacteriana.

En lo que respecta a la teoría de proteolisis-quelación existen serias dudas, en cuanto a la validez de algunas premisas básicas; por ejemplo, el efecto solubilizante del agente de quelación y de formación de complejos sobre las sales de calcio insolubles, es un hecho bien documentado, no se ha demostrado que ocurra un fenómeno similar en el esmalte in vivo.

Los microorganismos queratolíticos no forman parte de

la microflora bucal y son transedentes ocasionales. Además la proteína del esmalte es extraordinariamente resistente a la degradación microbiana; por otra parte, no se ha demostrado que tipos de bacterias, utilizando queratinas, destruyan la matriz orgánica del esmalte.

En los exámenes realizados para conocer las propiedades bioquímicas de un gran número de bacterias proteolíticas no se ha encontrado ninguna que pueda atacar el esmalte sano, además de que la concentración de materia orgánica en el esmalte es tan pequeña que aún cuando toda ella fuera convertida súbitamente en agentes de quelación activos, solo podrían disolver una pequeña fracción de hidroxiapatita del esmalte. Además tampoco existen pruebas convincentes de que las bacterias del sarro pueden en el ambiente natural, que presumiblemente está saturado de fosfato cálcico, atacar la materia orgánica del esmalte sin que previamente hubiese ocurrido la descalcificación [Jenkins, 1961].

El común denominador de las teorías analizadas es la participación directa de las bacterias en proceso carioso quedando por aclarar e investigar cual es el grupo de bacterias o la bacteria específica que está directamente relacionada con la activación inicial del proceso y por supuesto con el avance del mismo.

Etiología de la caries

En la revisión de los antecedentes se observa que a ca da uno de los microorganismos aislados e identificados se les atribuyó la etiología de la caries; sin embargo, la experimen tación ha sido básica para poder desecharlos e ir cerrando el círculo de las probabilidades acerca del agente etiológico - que interviene en el proceso (Lieber y Rothenstein, 1883; Or - land et al., 1955; Steinte et al., 1965).

Entre las bacterias, las que tienen importancia por su relación directa o indirecta con el proceso cariogénico se - encuentran dos géneros, Lactobacillus y Streptococcus.

Lactobacillus acidophilus se consideró como uno de - los agentes etiológicos específicos de la caries dental. De las bacterias encontradas en la microflora oral se le estudió y consideró como inductor del proceso carioso, debido princi - palmente a que el ácido láctico producido mediante la fermen - tación de carbohidratos, representa todo un principio para la remoción de sales en el esmalte (Handelman y Mills, 1965).

En pruebas posteriores Rogosa y Mitchell (1951), cuantifi - caron los Lactobacillus presentes por mililitro de saliva y al encontrar que aumentaba su población en relación directa - con el aumento de actividad de la caries, se concluyó que es-

te podría actuar como agente causal de la misma.

Los Lactobacillus son un grupo de bacterias caracterizadas por su presencia en la boca en la cual el número de estos varía en relación directa con determinadas circunstancias presentes en el proceso carioso. Las cuentas salivales de Lactobacillus se encuentran en un rango comprendido entre cero a varios cientos de miles de bacterias por mililitro de saliva. También pueden encontrarse en el intestino de adultos y de niños de ambos sexos, en la mucosa vaginal después de la pubertad de las mujeres, en la leche, en sus derivados y en otros alimentos (Bayona, 1962; Nolte 1971; Bayona, 1972).

El Lactobacillus acidophilus tiene importancia odontológica porque de alguna manera está incluido en el fenómeno cariogénico, aún cuando su actuación ha sido muy discutida. Miller (1900), postuló que este podría ser el agente etiológico basándose en el hecho de que en ausencia de caries no se hacen aislamientos considerables y que en su presencia se incrementa su número, existiendo una relación directa entre la intensidad de la caries y la cantidad de Lactobacillus aislados; sin embargo, en la actualidad esa idea ya no es compartida por no haberse comprobado experimentalmente, aunque realmente es el mejor indicador de que en la cavidad oral existen las condiciones apropiadas para que se inicie o continúe el

proceso cariogénico.

Por otro lado, considerando tomas de muestras de diferentes regiones de la boca (lengua, saliva, surco gingival y placa dento-bacteriana), los Streptococcus facultativos forman el grupo más numeroso de los microorganismos aislados y aun cuando los Streptococcus Beta hemoliticus son causa principal de infecciones locales y sistémicas (Watson y Brandly, - 1949; Watson Cromartie, 1950), se aíslan con rareza de las regiones anteriormente citadas, debido probablemente a la acción de diversos factores inhibitorios presentes en la saliva, por lo tanto los Streptococcus Beta hemoliticus aislados, posiblemente provengan de orofaringe y amígdalas.

Los enterococos del grupo D (Lancelfield, 1961) son raros en la lengua pero se aíslan con más frecuencia del surco gingival. Los enterococos se diferencian fácilmente de otros Streptococcus facultativos por su facilidad de crecer en condiciones desfavorables. Los Streptococcus lactis del grupo H (Lancelfield, 1961) han sido ocasionalmente aislados de la boca.

El grupo viridans es el que se ha aislado con mayor frecuencia; dentro de este grupo destacan las especies Streptococcus salivarius, Streptococcus mitis, Streptococcus sanguis y Streptococcus mutans.

Gibbons (1964) y Battshall (1975) han reportado que el Streptococcus mutans es una especie diferente a los otros Streptococcus, aun cuando son bacterias redondas, agrupadas en cadenas, Gram positivas y no hemolíticas; se aislan preferentemente de placa dento-bacteriana y de caries inducida por implantación artificial de esta bacteria y una dieta rica en sacarosa (Krasse, 1966); a esta bacteria se le describió como uno de los factores de la caries mediante pruebas experimentales continuas en dientes humanos y de animales de experimentación (Kuramitsu, 1973; Michalek, 1975; Brannstrom, 1977).

Carlsson (1967) reportó en el Streptococcus mutans las siguientes características: colonia elevada, convexa, de tonalidad azul y mucilaginoso, mide de 0.5 a 1.0 mm de diametro, con borde regular y superficie lisa, brillante y opaca. Esta especie crece en medios de cultivo adicionados con el 4% de cloruro de sodio y se inhibe su crecimiento al adicionar 6% de este, no produce amoníaco de arginina, no hidroliza el almidón, fermenta la inulina, rafinosa, manitol y sorbitol, además de que puede representar una cuenta mínima del 3 al 5% del total de bacterias cultivadas en medios anaerobios, pudiendo ascender hasta un 50% o mas en casos en los que exista un incremento en la actividad de caries (Burnett, 1969; Shklar, 1974). •

Uno de los principales componentes de la matriz gelatinosa de la placa dental es una dextrana extracelular sintetizada a partir de sacarosa por el *Streptococcus mutans* (Olsson y Nygaard, 1968), la que le confiere la capacidad de adhesión a las paredes del cristal y a las superficies del diente (Mukasa y Slade, 1973), lo que justifica los aislamientos de esta especie en el 90% de placa dento-bacterianas que no presentaban característica alguna en especial. También se le han descubierto, descrito y demostrado un número determinado de características que nos permiten conocerle cada vez mejor y familiarizarnos con su comportamiento, entre otras cosas sabemos que fenotípicamente es una bacteria homogénea, pero antígenicamente es heterogénea ya que se han descrito siete serotipos designados como "a", "b", "c", "d", "e", "f" y "g" de los cuales los "a", "c" y "e" en conjunto son considerados como biotipo I, representando el 85% con relación al resto de serotipos y biotipos (Shklair y Keene, 1974; Michalek et al., 1975).

En los aspectos preventivos se han estudiado varios métodos (Guggenheim y Regolati, 1972; Michalek et al., 1976), entre los que destaca la utilización de enzimas capaces de inhibir la síntesis de dextran, lo que previene la formación de producto esencial para la adhesión de la placa en el esmalte; Durack et al. (1978), provocaron inmunidad experimental en ra

tas mediante la inoculación de bacterias atenuadas; específicamente, Streptococcus mutans y Streptococcus sanguis.

Deepika y Hutton (1975), reportaron el aislamiento de una sustancia con efectos bactericidas hacia otros Streptococcus, dicha sustancia es producto metabólico del Streptococcus mutans. Esta bacteriocina es diferente a otras por no ser dializable ni termolábil, cualquier otro tipo de bacteria como Staphylococcus y Escherichia se muestran indiferentes a sus efectos. La importancia de la bacteriocina del Streptococcus mutans es que le confiere capacidad de alterar el equilibrio biológico bucal obteniendo como consecuencia prioridad en la flora constituyente de la placa dento-bacteriana.

Del análisis de todo lo anterior y con el fin de explicar la relación del Streptococcus mutans en la producción de la caries dental, se plantearon los siguientes objetivos:

- I Aislar al Streptococcus mutans de lesiones cariosas activas, diferenciándolo de otros Streptococcus presentes en la cavidad oral.
- II Demostrar la relación existente entre el grado de caries activa y la concentración poblacional del Streptococcus mutans en la cavidad oral.

MATERIALES Y METODOS

Al inicio de este trabajo fueron seleccionadas cepas - de las siguientes bacterias: Streptococcus mutans, Streptococcus Beta hemoliticus, Streptococcus Alfa hemoliticus, Staphylococcus aureus, Lactobacillus acidophilus y Bacillus subtilis.

Se prepararon los medios de cultivo gelosa sangre y dextrosa agar para resiembrar y conservación de los Streptococcus, el medio de cultivo S-110 con manitol para resiembrar y conservación del Staphylococcus aureus, el medio de Rogosa adicionado de jugo de tomate para el Lactobacillus acidophilus y agar nutritivo para Bacillus subtilis.

Se procedió a preparar el medio apropiado para detectar la morfología colonial de las bacterias seleccionadas. Se probó y aceptó un medio de cultivo que tiene como base al caldo de cultivo Todd Hewitt adicionándosele las siguientes sustancias: Agar, cloruro de sodio, azul de tripan, cristal violeta y telurito de potasio; a este medio de cultivo se le denominó M&H. Su método de preparación y del resto de los medios de cultivo utilizados se presentan a continuación:

Agar nutritivo, constituido por las siguientes sustancias en los gramos anotados.

Extracto de carne de res	5.0	g
--------------------------	-----	---

Peptona	3.0	g
Agar	15.0	g
Agua destilada	1000.0	ml.

Se disolvieron en ebullición y se esterilizó en autoclave a 121 °C y 15 libras de presión durante 15 minutos, se distribuyó en cajas de petri y se dejó solidificar a temperatura ambiente.

Agar S-110 para Staphylococcus, constituido por;

Extracto de levadura	21.5	g
Peptona trypticase	10.0	g
Lactosa	2.0	g
D manitol	10.0	g
Cloruro de sodio	75.0	g
Fosfato dipotásico	5.0	g
Agar	15.0	g
Agua destilada	1000.0	g

Se esterilizó en autoclave durante 15 minutos y se distribuyó en cajas de petri.

Medio de Rogosa (LBS), constituido por;

Peptona trypticase	10.0	g
Extracto de levadura	5.0	g

Fosfato monopotásico	5.0	g
Citrato de amonio	2.0	g
Dextrosa	20.0	g
Monolato de sorbitol	1.0	g
Acetato de sodio hidratado	25.0	g
Sulfato de magnesio	0.575	g
Sulfato de manganeso	0.12	g
Sulfato ferroso	0.034	g
Agar	15.0	g
Agua destilada	800.0	ml

Se esterilizó en autoclave durante 15 minutos, se dejó enfriar a 45 °C y se le agregaron 200 mililitros de jugo de tomate filtrado, se calibró el pH a 5.5 adicionando 1.3 mililitros de ácido acético glacial, se distribuyó en cajas de petri y se le dejó solidificar.

Caldo enriquecido Todd Hewitt, constituido por:

Extracto de carne	500.0	g
Peptona	20.0	g
Dextrosa	2.0	g
Cloruro de sodio	2.0	g
Fosfato dipotásico	0.4	g
Carbonato de sodio	2.5	g
Agua destilada	1000.0	g

Este medio se vació en tubos para cultivo y se esterilizó en autoclave durante 15 minutos.

Gelosa sangre, constituido por:

Infusión de músculo cardíaco	375.0	g
Peptona thiotone	5.0	g
Cloruro de sodio	5.0	g
Agar	15.0	g
Agua destilada	1000.0	g

Se disolvió y se esterilizó en autoclave durante 15 minutos, se dejó enfriar a 40 °C y se agregó 5 % de sangre desfibrinada estéril de carnero y se vació en cajas de petri. Este medio se utilizó cuando fue necesario diferenciar a los Streptococcus no hemolíticos de los que presentan hemólisis alfa o beta, también se utilizó cuando las cuentas bacterianas fueron bajas o nulas en el medio MSN.

Dextrosa agar (enriquecido), constituido por:

Extracto de carne	3.0	g
Peptona polipeptona	10.0	g
Dextrosa	10.0	g
Sacarosa	10.0	g
Cloruro de sodio	5.0	g
Agar	15.0	g

Agua destilada 1000.0 ml

Se mezclaron los componentes y se disolvieron por ebullición, se vaciaron en tubos de rosca y se esterilizaron durante 15 minutos, al salir del autoclave se colocaron inclinados y se solidificaron a temperatura ambiente.

Medio M4M (Todd Hewitt modificado)

Infusión de extracto de carne	500.0	g
Peptona	20.0	g
Dextrosa	2.0	g
Cloruro de sodio	10.0	g
Fosfato dipotásico	0.4	g
Carbonato de sodio	2.5	g
Sacarosa	50.0	g
Patrón de colorantes	5.0	g
Agar	15.0	g
Agua destilada	1000.0	ml

El patrón de colorantes contiene 7.5 mg de azul de tripan y 8.0 mg de cristal violeta diluidos en 10 mililitros de agua destilada estéril.

La mezcla se disolvió por ebullición, se esterilizó en autoclave durante 15 minutos, se enfrió a chorro de agua hasta 40 °C y se le agregaron 5 mililitros de solución estéril al 1 % de telurito de potasio, se distribuyó en cajas de

petri y se le dejó solidificar.

También se prepararon suspensiones de azúcares microbiológicos para la identificación bacteriana y establecer la comparación con las características bioquímicas que menciona la literatura; los azúcares seleccionados fueron los siguientes:

Glucosa, lactosa, manitol, dulcitol, inositol, rafinosa y arabinosa, además de la urea.

El método de preparación de las suspensiones de azúcares fue el siguiente:

Se preparó un caldo base para todos los azúcares con los siguientes componentes:

Peptona proteosa	10.0	g
Extracto de carne	1.0	g
Cloruro de sodio	5.0	g
Rojo de fenol	1.8	ml al 1%
Agua destilada	1000.0	ml

Se calentó la mezcla hasta su completa disolución, se colocó en ebullición durante 5 minutos, se dejó enfriar y se le agregó 5.0 gramos de azúcar microbiológico, se disolvió por agitación calentando suavemente, se distribuyó en tubos con campana de Dunham para atrape de CO₂, se les colocaron tapones de algodón y se esterilizaron en autoclave a 115 °C y 10 li-

bras de presión durante 10 minutos.

El método de inoculación en los medios de cultivo fue el de estela cruzada, en el cual el asa se esteriliza entre - estriado y estriado. Todas las inoculaciones se hicieron dentro de un área estéril.

Los medios bioquímicos se inocularon por agitación y utilizando el asa microbiológica en punta, también en este paso el asa se esterilizó antes y después de cada inoculación - bacteriana en el medio bioquímico. Los medios ya inoculados - se etiquetaron y se incubaron en anaerobiosis a 37 °C durante 24 horas.

Método de incubación en anaerobiosis

Se utilizó una bomba de succión a la cual se conectó un desecador con salida tipo Kitasato, por medio de una manguera dura flexible y un tubo de vidrio del mismo calibre que la manguera. Se limpió el desecador con benzal y se le colocó vaselina sólida neutra y estéril sobre el canto del recipiente en la zona de contacto con la tapa, se colocó en el interior una capa de papel desecante en el que se pusieron las cajas invertidas, para evitar condensación de agua. Sobre las cajas de cultivo se colocó un mechero de alcohol encendido, se tapó el desecador y se conectó el sistema a la bomba de succión, -

al consumirse el oxígeno del desecador el mechero se apagó, siendo esta la señal para activar la bomba de succión, la que se dejó encendida hasta que se alcanzó la presión de vacío - de 23.7 pulgadas de mercurio. Sin apagar la bomba de succión se dobló la manguera en un punto cercano al desecador y se colocó una pinza de presión para sellar la salida. Al desconectar la manguera del succionador se le colocó un tapón de hule a presión.

Después de revisar minuciosamente el funcionamiento del sistema, se introdujo el desecador ya sellado a la incubadora bacteriológica durante el tiempo y a la temperatura - antes mencionada. La mejor forma de determinar que hubo formación de vacío en nuestro sistema de anaerobiosis, fue el - observar que al quitar el tapón y la pinza, se aspiraba aire de forma vigorosa por la manguera y hacia el interior del desecador, ya que es realmente imposible el destapar el desecador si antes no se hace esta operación.

Las pruebas del medio M&M se realizaron de la siguiente manera:

La superficie del medio de cultivo se dividió en tres secciones del mismo tamaño, en una se inoculó el Streptococcus mutans, en otra el Streptococcus Beta hemoliticus y en la - tercera se inoculó el Staphylococcus aureus, la caja se marcó

con el número (I). En otra caja se inocularon las siguientes bacterias; Streptococcus mutans, Streptococcus Alfa hemoliticus y Bacillus subtilis, la caja se marcó con el número (II). En la caja (III) se inoculó Streptococcus mutans, Lactobacillus acidophilus y Staphylococcus aureus. En la caja (IV) se inoculó Streptococcus mutans, Streptococcus Beta hemoliticus y Streptococcus Alfa hemoliticus. Por último la caja marcada con el número (V) se inoculó con Streptococcus mutans, Lactobacillus acidophilus y Bacillus subtilis. Todas las inoculaciones se hicieron por duplicado en otra serie de medios de cultivo y se incubaron con el método ya descrito. Asimismo, - los Streptococcus se inocularon en los medios bioquímicos para diferenciarlos entre sí.

Con los resultados obtenidos en estas pruebas preliminares se implementó el método a seguir para cumplir el objetivo planteado.

Para desarrollar este trabajo fue indispensable establecer las variables a controlar en cada una de sus fases. - Con respecto a la toma de muestra, se homogeneizó el método de selección, clasificación y muestreo de lesiones cariosas.

Con respecto al transporte, se utilizaron tubos de 10 x 75 con tapón de hule previamente enumerados, etiquetados -

con tela adhesiva y esterilizados.

Se preparó un litro de solución salina isotónica y - estéril y se procedió a colocar 0.1 mililitro de ésta en cada tubo previamente pesado.

Para la obtención de muestras de lesiones cariosas - activas se trabajó con pacientes tomados al azar, de la población que recurre a asistencia odontológica en la clínica, con base en los siguientes parámetros convencionales se les evaluó clínicamente el grado de caries en el que se encontraba el diente "donador" :

Caries de primer grado.- Cuando la lesión cariosa activa solo afecta histológicamente al esmalte.

Caries de segundo grado.- Cuando la lesión cariosa activa afecta histológicamente al esmalte y a la dentina.

Caries de tercer grado.- Cuando la lesión cariosa activa afecta histológicamente al esmalte, dentina y pulpa.

Establecido el primer contacto con el paciente se siguió la metodología que se describe a continuación:

-Con merthiolate blanco se practicó asepsia del diente donador y zona periférica, se cortó un cuadrado de 10 cm. por lado de dique de hule negro, al que se le practicó una perforación adecuada al tamaño del diente seleccionado.

-Se seleccionó una placa dental adecuada al tipo de diente (molar, premolar, canino e incisivo) en la que se fijó el dique de hule estirando la perforación.

-Con una pieza portagrapa se abrió la grapa, se colocó sobre el cuello del diente y cerrando se aisló de los dientes contiguos.

-Con una cucharilla dental se eliminó la primera capa de tejido reblandecido y los detritos alimenticios de la cavidad dental.

- Con otra cucharilla se obtuvo la capa de tejido reblandecido situada en el fondo de la cavidad dental y se depositó en un tubo previamente flameado.

-Se determinó el peso neto de la muestra, registrándose además, la edad, el sexo y el grado de caries del paciente.

Al tubo con muestra se le agregaron 0.9 mililitros de solución salina isotónica estéril, homogeneizándose la muestra, de la cual se tomaron 0.2 mililitros para completar en otro tubo con 4.8 mililitros de solución salina estéril, agitando nuevamente hasta homogeneizar la mezcla tras lo cual se tomaron 0.5 mililitros de esta dilución para colocarla en otro tubo con 9.5 mililitros de solución. De cada una de las diluciones anteriores se tomaron 0.1 mililitro, con lo que se

Inocularon los medios de cultivo M&M y gelosa sangre.

La décima de mililitro de las diluciones se repartió homogéneamente en toda la superficie del agar, agitando vigorosamente la caja de cultivo sobre la mesa con movimientos circulares. Las cajas sembradas se incubaron a 37 °C durante 24 horas en anaerobiosis, siendo previamente etiquetados cada una de ellas.

Al transcurrir el tiempo de incubación se hizo la lectura de las colonias que presentaron la morfología colonial característica de Streptococcus mutans. Se registró el dato de la cuantificación del número de colonias aisladas en la caja de petri.

El registro de datos experimentales se realizó por el método de bitácora, en el cual se anotaron columnas con los siguientes datos:

Peso inicial	(tubo, tapón y 0.1 ml de solución salina).
Peso final	(peso inicial más muestra).
Peso neto	(muestra).
Cuenta total bacteriana	(número de bacterias por caja).
Cuenta parcial	(cuenta total entre dilución)
Cuenta final	(bacterias/mg de muestra).

Grado de caries.

Sexo del paciente.

Edad del paciente.

*Cuando faltó algún dato esencial se evitó hacer el -
cómputo final para ese caso y no se incluyó en el análisis
estadístico.*

RESULTADOS

De la caracterización colonial del Streptococcus mutans con bacterias tipificadas se encontraron diferentes en tamaño, color y luz transmitida en relación con los Streptococcus Alfa y Beta hemolíticos (Tablas 1, 2 y 3). En comparación con el Staphylococcus aureus las diferencias coloniales fueron en tamaño, color y luz reflejada (Tablas 1 y 4).

En la caracterización bioquímica en Streptococcus mutans degradó todos los azúcares probados pero no tuvo acción alguna sobre la urea (Tabla 1), en cambio el Streptococcus Beta hemolíticos no degradó la arabinosa ni la urea (Tabla 3); el Streptococcus Alfa hemolíticos no degradó el manitol, inositol, arabinosa ni urea (Tabla 2); por último, el Staphylococcus aureus no degradó el dulcitol ni la urea (Tabla 4).

De los aislamientos del Streptococcus mutans a partir del tejido dental reblandecido se obtuvieron 323 muestras, de las cuales solo se estudiaron 291, saliendo positivas 210 y 81 negativas; correspondiendo al 72.1% las muestras positivas estudiadas y al 27.9% las negativas. De las 291 muestras estudiadas 92 correspondieron al primer grado, 91 al segundo y 108 muestras al tercero. En el primer y segundo grado no hubo muestras negativas, correspondiendo al tercer grado de caries el 75% de muestras con resultados negativos en su aislamiento y 25% de aislamientos positivos (Tabla 5).

Se consideraron los cinco grupos clásicos de edad a los cuales correspondieron los siguientes porcentajes de muestras estudiadas positivas; niñez 65.7, adolescencia 67.6, juventud 78.4, madurez 72.0 y ancianidad 72.7% de muestras positivas (Tabla 6).

Dado que la frecuencia y amplitud de los grupos de edad fue diferente, para cada uno de ellos se determinó y utilizó un número promedio de bacterias para cada grupo de edad. (Tabla 7).

En las gráficas se nota una similitud en el desarrollo de la población en caries de primer y segundo grado, ambas son bimodales; la figura (1), presenta la moda en la adolescencia y la figura (2), en la niñez, con una desproporción en cuanto a concentración bacteriana, 55.5 y 225.4 bacterias para primer y segundo grado, respectivamente. En estos dos grados de caries el punto más bajo de la curva se presenta en la madurez, siendo la ancianidad donde se forma la segunda moda, aunque de menor valor que la primera. Además, se presenta una gran diferencia en cuanto a desarrollo de la población y a concentración bacteriana, ya que la moda se presenta en la madurez y la ancianidad es negativa en la caries de tercer grado. (Fig. 3).

Al comparar los tres promedios se observa la propor -

ción de los tres grados de caries, aún cuando la concentración bacteriana está expresada en logaritmos (Fig. 4).

Por último, al establecer una comparación del desarrollo de la población del Streptococcus mutans en los tres grados de caries, fue necesario convertir los números a logaritmos y aún así se aprecia el avance de la población del Streptococcus mutans en caries de primer grado a caries de segundo grado, y la disminución tan marcada cuando el diente pasa de segundo grado a caries de tercer grado. (Fig. 5).

Tablas de morfología colonial y comportamiento bioquímico de las bacterias seleccionadas

1.

Streptococcus mutans	Medios
Morfología colonial	bioquímicos
Forma redonda	Glucosa +
Tamaño 1,0 mm	Lactosa +
Color azul	Manitol +
Convexa baja	Arabinosa +
Superficie lisa	Dulcitol +
Borde regular	Inositol +
Opaca	Rafinosa +
Brillante	Urea -
Blanda	

2.

Streptococcus Alfa	Medios
Morfología colonial	bioquímicos
Forma redonda	Glucosa +
Tamaño 0.5-1.0 mm	Lactosa +
Incolora	Manitol -
Convexa baja	Arabinosa -
Superficie lisa	Dulcitol +
Borde regular	Inositol -
Translúcida	Rafinosa +
Brillante	Urea -
Blanda	

3.

Streptococcus Beta	Medios
Morfología colonial	bioquímicos
Forma redonda	Glucosa +
Tamaño 0.5-1.0 mm	Lactosa +
Incolora	Manitol +
Convexa baja	Arabinosa -
Superficie lisa	Dulcitol +
Borde regular	Inositol +
Translúcida	Rafinosa +
Brillante	Urea -
Blanda	

4.

Staphylococcus aureus	Medios
Morfología colonial	bioquímicos
Forma redonda	Glucosa +
Tamaño 2.0-3.0 mm	Lactosa +
Color negro	Manitol +
Convexa elevada	Arabinosa +
Superficie lisa	Dulcitol -
Borde regular	Inositol +
Opaca	Rafinosa +
Mate	Urea -
Blanda	

Tabla No. 5
Hallazgo de Streptococcus mutans
en los tres grados de caries.

Muestras	GRADOS	1º	2º	3º	Total
	ESTUDIADAS	92	91	108	291
	POSITIVAS	92	91	27	210
	NEGATIVAS	0	0	81	81
	% POS.	100	100	25	72.1

Tabla No. 6

●
Análisis distribucional de las cuentas bacterianas en
los tres grados de caries y los cinco grupos de edad.

ETAPAS	NINÉZ .			ADOLESCENCIA			JUVENTUD			MADUREZ			ANCIANIDAD		
GRADOS	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª
ESTUDIADAS	10	9	13	29	15	27	33	35	34	16	28	31	4	4	3
POSITIVAS	10	9	2	29	15	4	33	35	8	16	28	13	4	4	0
NEGATIVAS	0	0	11	0	0	23	0	0	22	0	0	18	0	0	3
% POSITIVAS	100	100	153	100	100	148	100	100	235	100	100	464	100	100	0
Total	- 32 -			- 71 -			- 102 -			- 75 -			- 11 -		
Total %	65.7			67.6			78.4			76.0			72.7		

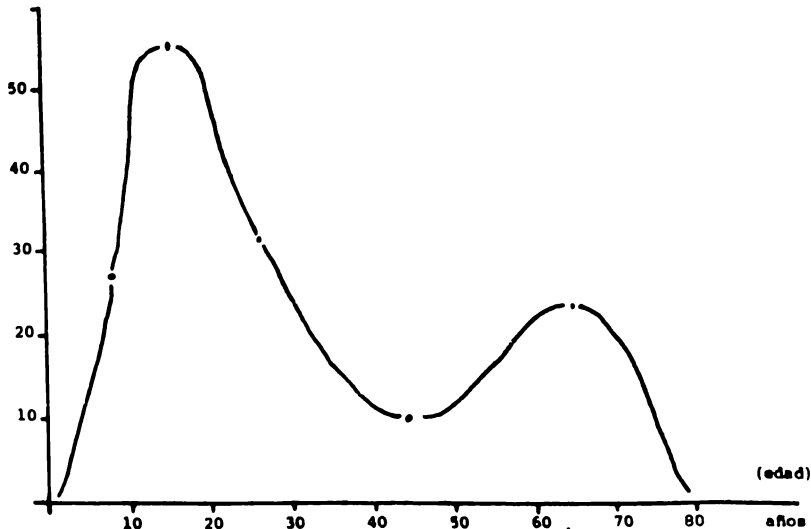
Tabla No. 7

Distribución de los hallazgos de Streptococcus mutans en las cinco etapas de crecimiento y los tres grados de caries.

	N	Ln	A ₁	F	Ct	Cp	$\bar{x}$
Primer grado	1	4-12	9	10	2425	242.3	27.0
	2	13-18	6	29	9654	333.0	55.5
	3	19-34	16	33	16854	510.7	32.0
	4	35-54	20	16	3259	203.6	10.2
	5	55-75	21	4	2021	505.2	24.0
segundo grado	1	4-12	9	9	18263	2029	225.4
	2	13-18	6	15	15179	1011	168.5
	3	19-34	16	35	45046	1287	80.4
	4	35-54	20	28	29874	1067	53.3
	5	55-75	21	4	9041	2261	107.6
tercer grado	1	4-12	9	13	137	10.5	1.16
	2	13-18	6	27	254	9.4	1.56
	3	19-34	16	34	941	27.6	1.72
	4	35-54	20	31	200	64.7	3.2
	5	55-75	21	3	0	0	0

(bact./mg)

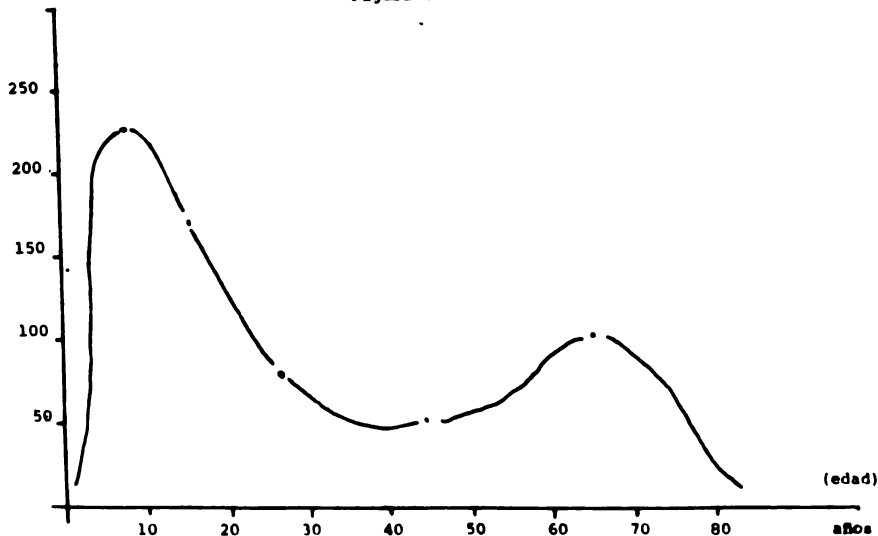
Figura 1



Población del Streptococcus mutans en caries de primer grado en relación a grupos de edad nutricio-hormonal

(bact./mg)

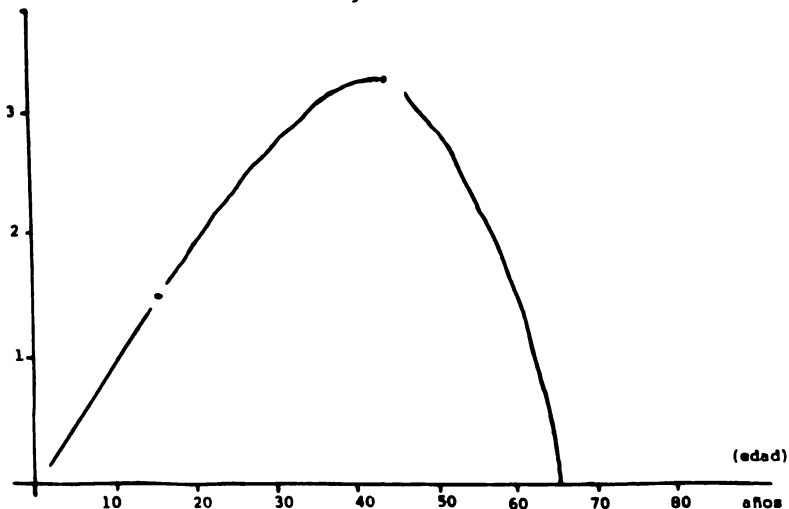
Figura 2



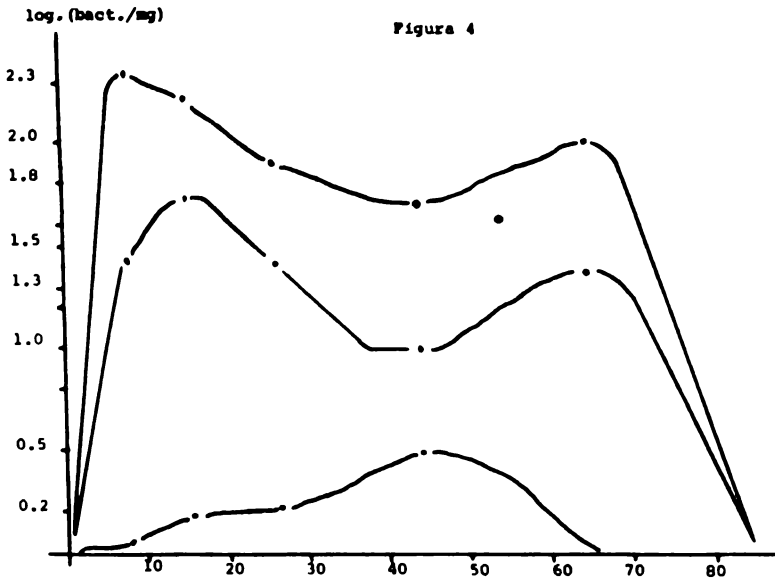
Población del *Streptococcus mutans* en caries de segundo grado en relación a grupos de edad nutricio-hormonal

(bact./mg)

Figura 3



- Población del Streptococcus mutans en caries de tercer grado en relación a grupos de edad nutricio-hormonal



Población del Streptococcus mutans en caries de primero, segundo y tercer grados en relación a grupos de edad nutricio-hormonal.

LOG. (BACT. /MG.)



LOGARITMO DEL PROMEDIO DE BACTERIAS POR MILIGRAMO DE MUESTRA
EN CARIES DE PRIMER, SEGUNDO Y TERCER GRADO.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Desde que se reportó por primera vez el aislamiento de Streptococcus mutans (Clarke, 1924), se le consideró como uno de los factores etiológicos de la caries, ya que su aislamiento fue de dentina reblandecida y de placa dento-bacteriana; sin embargo, en el transcurso de varias décadas los estudios se orientaron hacia el conocimiento de la función de Lactobacillus acidophilus como bacteria cariogénica (Steinle et al., 1965). Reconsiderando la importancia de las bacterias acidogénicas en la activación de la caries, Fitzgerald y Keyes (1960) elaboraron un modelo gráfico que muestra los factores que intervienen directamente en la activación y progreso de la caries, la cual no se manifiesta cuando falta cualquiera de éstos. A partir de entonces se inició una nueva era en el campo de la investigación microbiológica oral, enfocándose los estudios para la obtención de conocimientos acerca del comportamiento de los Streptococcus como posible factor inductor de la caries, realizándose estudios experimentales para clasificar al Streptococcus mutans dentro de los grupos ya preestablecidos por Lancelfield (1962), y al no poseer la proteína esencial para esta clasificación se le consideró como componente de los Streptococcus del grupo viridans (Colman y Williamson, 1972), realizándose asimismo, estudios ecológicos tendientes a demostrar la predominancia de esta bacteria en la placa dento-bacteriana (Hardie y Bowden;

1974) e inferir el potencial cariogénico del *Streptococcus mutans* (Gibbons, 1970), relacionando ese potencial con factores de tipo enzimático, propios de esta bacteria (Deepika y Hutton, 1975; Hamada et al., 1975) y a la capacidad de álisis de levanas y dextranas, teniendo como precursor a la sacarosa, la que al provenir de la dieta, cubre el segundo - factor necesario para la formación de caries (Campbell, 1978). La función de los polímeros de carbohidratos es la de conferirle al *Streptococcus mutans* la capacidad de adhesión al diente sobre superficies susceptibles, las que se caracterizan por poseer depresiones, grietas y fisuras o zonas en - las que no existe lavado por el flujo salival y masaje de - la musculatura labial y lingual (Abramovich y Sabelli, 1974; Torabinejad y Leif, 1978).

La calidad y profundidad de las investigaciones se incrementó notablemente en la presente década, en la cual se reportó que el *Streptococcus mutans* cumple los postulados de Koch (Brannstrom et al., 1977; Bammann et al., 1978); ya que utilizando al hombre y animales de laboratorio como huésped de esta bacteria acidogénica, se induce la producción de lesiones típicas de caries.

Se elaboraron trabajos para conocer mejor las características morfofisiológicas del *Streptococcus mutans*, ade -

mas de la variación antigénica y su susceptibilidad y comportamiento frente a los mecanismos específicos de inmunidad (Taubman y Smith, 1974; Michalek et al., 1973; Arnold et al., 1977). Asimismo, otro factor importante que le permite establecerse en su hábitat, es la producción de una bacteriocina capaz de inhibir el crecimiento de otras especies de Streptococcus, sin afectar a bacterias ajenas a este género (Deepika y Hutton, 1975).

El incremento de la población del Streptococcus mutans se relaciona con el incremento en la lesión cariosa del diente y a su vez el grado de caries influye directamente en el desarrollo del incremento de la población del Streptococcus mutans.

Por el análisis de resultados de este trabajo se observó, en primer lugar, que los cambios poblacionales presentan un incremento inicial relacionado con el grado de caries y, en segundo, que el incremento poblacional se relaciona con grupos de edad nutricio-hormonal de individuos que presentan estos grados.

En el primer punto los resultados indicaron un promedio de 371.8 bacterias en cada miligramo de peso húmedo en caries de primer grado, 1290.0 en el segundo grado y 30.9 en

caries de tercer grado, sin considerar edades. El número de bacterias en cada milígramo es 3.47 veces mayor en caries de segundo grado que en primer grado y la concentración en caries de tercer grado es de 41.74 veces menor que la de segundo grado. Se detectó el incremento de la población bacteriana en el inicio, explicándose de la siguiente manera:

1º .- El potencial biótico del diente para con las bacterias fue grande y aprovechado.

2º .- El incremento del Streptococcus mutans aumentó a su vez la concentración de sustancias inhibidoras para los demás Streptococcus y otras bacterias.

3º .- La caries se inicia solo en presencia de bacterias acidogénicas y una dieta rica en carbohidratos (sacarosa), los que al ser convertidos en levanas y dextranas les permitió un almacenamiento de nutrientes para el Streptococcus mutans y otras bacterias relacionadas o involucradas en la caries, que al degradar las unidades de polímeros produjeron ácido láctico, provocando la desmineralización del componente inorgánico del esmalte y dentina, permitiendo así la implantación y acción de las bacterias acidogénicas en nuevos sitios del diente.

El drástico decremento bacteriano en caries de tercer grado, se justifica al considerar que el potencial biótico -

del diente para con el Streptococcus mutans se agotó cuando la lesión alcanzó la pulpa. Al ir ocupando el St. mutans la zona de avance de la lesión cedió a su vez las partes más superficial de dicha lesión a diferentes tipos de bacterias, las que contribuyeron a amplificar el efecto lesivo al diente (Bowman et al., 1978); al mismo tiempo provocaron una acción competitiva contra los Streptococcus, deprimiendo o eliminando su población.

En el segundo punto y al continuar el análisis de los resultados se hicieron intervalos de clase tomando como referencia los cambios nutricio-hormonales en el hombre; al graficar los promedios de concentración bacteriana contra los grupos de edad, se observó un incremento poblacional en la etapa de la niñez a la adolescencia, ocurriendo un ligero descenso en la juventud; este pico poblacional indicó que la máxima concentración bacteriana se localiza en la adolescencia, debido principalmente a que en la niñez la velocidad de actividad de caries es más acelerada que en las otras etapas de crecimiento, además de que en caries de segundo grado la máxima población bacteriana se detectó en la niñez, y en ambos casos la etapa de madurez presentó la menor concentración de Streptococcus mutans, la cual pudo ser causada por los hábitos de higiene y alimentación, que de hecho son característi-

mente estables en esa edad, radicalmente diferentes a los de la niñez, adolescencia y juventud que se manifiestan en los diferentes grados de caries (Figs. 1, 2 y 3).

Entre los cambios más importantes observados en los ancianos, está el de la pérdida de los hábitos higiénicos y la substitución de la dieta dura por una dieta básicamente blanda.

Otros factores que contribuyen a la activación de caries y consecuentemente a la implantación de poblaciones de St. mutans, es la aparición de fracturas en las caras oclusales de los dientes como consecuencia de la abrasión y fricción a través del tiempo. Además, una lesión cariosa solo puede estar en un grado y de ninguna manera hay reversión en el grado de caries, existiendo un efecto acumulativo de tipo lesivo en relación directa con el incremento en la edad. Además cuando existe lesión cariosa activa en tercer grado en un diente sólo se puede seguir cualquiera de las siguientes dos opciones: Previa limpieza del tejido reblandecido se coloca una amalgama en la cavidad dental, o se lleva a cabo la extracción de la pieza dental lesionada, aún cuando por razones estéticas se llega a substituir dicha pieza dental por otra, ya sea de porcelana o de aleación de metales nobles; de esta manera se resuelve la susceptibilidad a la adquisición

de caries, justificandose así la ausencia de St. mutans en -
ancianos con caries de tercer grado.

Por lo anteriormente expuesto, en este trabajo se
concluye que el Streptococcus mutans se encuentra presente en
la activación y desarrollo de la lesión cariosa, existiendo
una relación recíproca e influenciada por aspectos inherentes
a la edad del paciente, como son los hábitos alimenticios, -
higiénicos y pérdida de superficies o piezas dentales, así
como también el avance de la lesión.

EL STREPTOCOCCUS MUTANS Y SU RELACION CON LA CARIES

RESUMEN:

El objetivo de este trabajo fue el aislar el Streptococcus mutans de las lesiones de caries de primer, segundo y tercer grado, para detectar la relación existente entre el incremento de su población y el avance de caries.

Se caracterizó previamente a dicha bacteria con procedimientos morfológicos, microscópicos, macroscópicos y medios bioquímicos.

Se probaron diferentes medios de cultivo para ver en cual se desarrollaban mejor las colonias de Streptococcus, habiéndose modificado un medio de cultivo con: sacarosa, cristal violeta, azul de tripan, cloruro de sodio y telurito de potasio, para obtener en conjunto una función de enriquecimiento e inhibición selectiva para la mayoría de las bacterias orales, excepto los Streptococcus, manifestándose la morfología colonial del Streptococcus mutans, específica en relación a otros Streptococcus caracterizados y/o donados por otros laboratorios.

Se estudiaron 291 muestras de los tres grados de caries, correspondiendo 92 al de primer grado, 91 al segundo y 108 al de tercer grado de caries. El promedio de bacterias por miligramo de muestra de caries de primer grado fue de 371.8, el de segundo grado fue de 1290.1 y el de tercer gra-

do fue de 14.1 bacterias en cada miligramo de muestra.

Para el análisis estadístico se consideraron los cambios nutricio-hormonales como variable independiente, estableciéndose las etapas de niñez, adolescencia, juventud, madurez y ancianidad. Observándose que la población del Streptococcus mutans presenta un incremento inicial relacionado con el grado de caries, y que disminuye drásticamente al llegar la lesión a su máximo alcance.

Con respecto a los grupos de edad, la población del St. mutans se desarrolla de manera similar en caries de primer y segundo grado, presentándose en adolescencia y niñez respectivamente, la máxima población. Considerando que el avance mismo de la lesión, la edad, los hábitos higiénicos y los hábitos alimenticios permiten el desarrollo de los Streptococcus mutans.

En caries de tercer grado se observa un comportamiento poblacional diferente a los anteriores grados, destacando la ausencia de aislamientos positivos en la ancianidad, lo que es justificable por el hecho de que las personas ancianas presentan una pérdida de superficies dentales susceptibles de caries en relación directa al incremento de la edad sin olvidar la adquisición de hábitos alimenticios y la pérdida de los hábitos higiénicos.

LITERATURA CITADA

- 1.- Abramovich, A. y C. A. Sabelli, 1974. Action of Streptococcus mutans on dental enamel pretreated with stannous fluoride. J. Dent. Res. 53:94-97.
- 2.- Amin, S.S., 1959. Microcosms of the human mouth. J. Tenn. Dent. Ass. 59:3-28.
- 3.- Arnold, R.R., M.F.Cole, S.Paince y J.R.Mc Ghee, 1977. Secretory IgM'antibodies to Streptococcus mutans in subjects with selective IgA deficiency. Imm. and Immunopath. 8:475-486.
- 4.- Bammann, L., W.B.Clarele y R.J.Gibbons, 1978. Impaired colonization of gnotobiotic and conventional rats by streptomycin resistant strain of Streptococcus mutans. Inf. Imm. 22:721-728.
- 5.- Bagnall, J.S., 1950. Bibliography on caries research. National Research. Council of Canada. Ottawa.
- 6.- Bayona, G.A., 1962. Prueba rápida de susceptibilidad a la caries. Rev. de la Asoc. Dent. Mex. 20:301-308.
- 7.- Bayona, G.A., 1972. Importancia de la placa dento-bacteriana en la odontología moderna. Rev. de la Asoc. Dent. Mex. 29:93-99
- 8.- Bergman, G. y B. Engfeldt, 1954. Studies on mineralized dental tissues. II Microradiography as a metod

for studying dental tissues and its applica -
tion to the study of caries. Act. Odont. Scand.
12-13:94-104.

- 9.- Bowman, G., G.E.Minah y G.N.Krynolap, 1978. Relation of
oral flora to diet and caries experience. J.
Dent. Res. Special Issue:181 p.
- 10.- Brannstrom, M., J.Friskopp y L.Victoria, 1977. The in -
duction of caries in human teeth. Arch. Oral.
Biol. 22:571-578.
- 11.-Bratthall, D. y R.J.Gibbons, 1975. Antigenic variation -
of Streptococcus mutans, colonizing gnotobio -
tic rats. Inf. Imm. 12:1231-1236.
- 12.-Burnett, G.W. y H.W.Scherp, 1953. The effects on dentin of
proteolytic and acidogenic bacteria, isolated
from carious lesion. J. Dent. Res. 32:46-49.
- 13.- Burnett, G.W., 1968. Oral microbiology and infectious di -
sease. p.328-406. Baltimore Williams and Wil -
kins Co.
- 14.- Burnett, G.W. y H.W.Scherp, 1975. Oral microbiology and
infectious disease. Special edition for students.
Baltimore, Williams and wilkins Co.
- 15.- Campbell, H.L., 1978. Extractibility of cell wall poly -

saccharide from Lactobacilli and Streptococci by autoclaving by dilute acid. Inf. Imm. 22: 842-849.

- 16.- Carlsson, J., 1967. Presence of various types of non-hemolytic streptococci in dental plaque and in other sites of the oral cavity in man. Odon - tol. Revy. 18:55-59.
- 17.- Clarke, J.K., 1924. On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. Br. J. Exp. Pathol. 5:141-147.
- 18.- Colman, G. y R.E.Williams, 1972. Taxonomy of some human viridans Streptococci, p. 281-299. In L.W. Wannamaker y J.M. Maser (ed.), Streptococci - and Streptococcal diseases. Academic Press, N. York and London.
- 19.-Deepika, P. y D.Hutton, 1975. Production and properties of an extracellular Bacteraemicin from Streptococcus mutans. J. Bact. 123:1597-1599.
- 20.- Durack, T.D., B.C.Gilliland y G.Robert, 1978. Effects of immunization on susceptibility to experimental Streptococcus mutans and Streptococcus sanguis, endocarditis. Inf. Imm. 22:52-56.

- 21.- Emblson, C.O. y D.Brathall, 1976. Growth of Streptococcus mutans on various selective media. J. Clin. Microbiol. 4:95-98.
- 22.- Fitzgerald, R.J. y P.H.Keyes. 1960. Demonstration of the etiologic role of Streptococci in experimental caries in the hamster. J. Am. Dent. Assoc. 61:9-14.
- 23.- Gibbons, R.J., 1964. Studies of predominant cultivable microbiota of dental plaque. Arch. Oral Biol. 9:1415-1425.
- 24.- Gibbons, R.J. y M. Nygaard, 1968. Synthesis of insoluble dextran and its significance in the formation of gelatinous deposits by plaque forming Streptococci. Arch. Oral Biol. 13:1249-1262.
- 25.- Gibbons, R.J., 1972. Ecology and cariogenic potential of oral Streptococci, p. 371-384. In L.W.Namamaker y J.M. Matser (ed.), Streptococci and Streptococcal diseases, Academic Press, New York and London.
- 26.- Gibbons, R.J., 1977. Adherence of bacteria to host tissue, p. 395-406. In D.Schlessinger, A.S.M. (ed.), Microbiology, Washington, D.C.

- 27.- Gordon, D.F. y R.J.Gibbons, 1966. Studies of the predominant cultivable microorganisms from the human tongue. Arch. Oral Biol. 11:627-632.
- 28.- Gottlieb, B., 1947. Dental caries, p. 329-341. In G.W. Burnett (ed.), Oral microbiology and infectious disease, Baltimore, Williams and Wilkins Co.
- 29.- Guggenheim, B., B.Regolati y H.R.Muhlemann, 1972. Caries and plaque inhibition by mutanase in rats. - Caries Res. 6:289-297.
- 30.- Hamada, S., J.Mizuno, Y.Murayama, T.Ooshima, N.Nasuda y S.Sobue, 1975. Effects of Dextranase on the extracellular polysaccharide synthesis of Streptococcus mutans; Chemical and scanning electron Microscopy studies. Inf. Imm. 12: 1415-1425.
- 31.-Handelman, S.L. y J.R.Mills, 1965. Enumeration of selected salivary bacterial groups. J. Dent. Res. 44:1343-1345.
- 32.- Hardie, J.M. y G.H.Bowden, 1974. Cell Wall and serological studies on Streptococcus mutans. Caries Res. 8:301-316.

- 33.- Hurdle, J.H. y P.L.Talomon, 1977. Two years results in study of plaque and caries. J. Dent. Res. 56: 90-98.
- 34.- Jenkins, G.M., 1961. A critique of the proteolysis-chelation theory of caries. Br. Dent. J. 111:311--318.
- 35.- Krasse, B., 1954. The proportional distribution of Streptococcus salivarius and other Streptococci in various parts of the mouth. Odontol. Revy. 5: 203-211.
- 36.- Krasse, B., 1966. Human Streptococci and experimental caries in hamsters. Arch. Oral Biol. 11:578-584.
- 37.- Kuramitsu, H., 1973. Characterization of invertase activity from cariogenic Streptococcus mutans. J. Bact. 115:1003-1009
- 38.- Lancelfield, R.C., 1962. Current Knowledge of type-specific M antigens of group A Streptococci. J. Imm. 89:307-322.
- 39.- Lazzari, E., 1969. Biología dental. ed. Interamericana S.A., México. 203 p.
- 40.- Leber, T. y J.B.Rottenstein, 1883. Dental caries and its cause. (Chandler Translation). Blakiston Co. - Philadelphia. 74 p.

- 41.- Mandel, I.D., 1966. Dental plaque: Nature, formation and effects. J. Periodont. 37:357-367.
- 42.- Mc Dougal, W.A., 1963. Studies on the dental plaque. II The histology of the developing interproximal plaque. Aust. Dent. J. 8:398-407.
- 43.- Michalek, S.M., T.Shiola, J.W.Navia y J.R.Mc Ghee, 1975. Virulence of Streptococcus mutans; Biochemical and pathogenic characteristics of mutants isolates. Exp. Biol. and Med. 150:498-502.
- 44.- Michalek, S.M., J.R.Mc Ghee, J.W.Navia y A.J.Narkates, 1976. Effective immunity to dental caries; Protection of malnourished rats by local injection of Streptococcus mutans. Inf. Imm. 13:782-788.
- 45.- Nolte, A.W., 1971. Microbiologia odontológica. p. 4-28 y 164-176. ed. Interamericana S.A. México.
- 46.- Orland, F.J., 1955. Experimental caries in germfree rats inoculated with enterococci. J. Am. Dent Assoc. 50:259-261.
- 47.- Ritz, H.L., 1967. Microbial population shifts in developing human dental plaque. Arch. Oral Biol. 18:571-575.

- 48.- Rogosa, M., J.A.Mitchell y R.F.Wiseman, 1951. A selective medium for the isolation and enumeration of oral Lactobacilli. J. Dent. Res. 30:682-686.
- 49.- Schatz, A., 1962. The Proteolysis-Chelation theory of dental caries. J. Am. Dent. Assoc. 65:368-374.
- 50.- Shklair, I.L. y H.J.Keene, 1974. A biochemical scheme for the separation of the five varietales of Streptococcus mutans. Arch. Oral Biol. 19:1079-1082.
- 51.- Smith, T.D., F.H.Conant y P.H.Willet, 1968. Zinsser Microbiology. 14a. ed. Appleton-Century-Crafts. New York U.S.A. p. 924-942.
- 52.- Steinle, C.J., J.V.Madonia y A.W.Bahn, 1965. Relationship of Lactobacilly to the carious lesion. J.Dent. Res. 46:191-196.
- 53.- Taubman, H.A. y D.J.Smith, 1974. Effects of local immunization with Streptococcus mutans on induction of salivary immunoglobulin A antibody and experimental dental caries in rats. Inf. Imm. 9: 1079-1091.
- 54.- Theilade, J., 1977. Plaque development of bacterial plaque in the oral cavity. J. Clin. Periodont. 4: 1-12.

- 55.- Torabinejad, M. y K.B.Leif, 1978. Immunopathogenesis of chronic periapical lesions. Oral Surg. 46:685-695.
- 56.- Watson, D.W. y C.A.Brandly, 1949. Virulence and pathogenicity. Ann. Rev. Microbiol. 3:195-213.
- 57.- Watson, D.W. y W.J.Cromartie, 1951. The biology of group A Streptococcus. Bull. Univ. Minn. Found. 22:188-260.
- 58.- Winkler, K.C., 1958. The mechanisms of dental plaque. - Int. Dent. J. 8:561-577.