

2ej. 107

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA UNAM

CARRERA DE CIRUJANO DENTISTA

**TESIS DONADA POR
D. G. B. - UNAM**

OBTENCION DE DEXTRANAS POR MEDIO DE
CULTIVO DEL STREPTOCOCCUS MUTANS
AISLADO DE PLACA DENTOBACTERIANA.

2- PAZ MORENO FCO. RICARDO

1- FEERMAN DAVIS RAMIRO



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.

OBTENCION DE DEXTRANAS POR MEDIO DE CULTIVO DEL
STREPTOCOCCUS MUTANS AISLADOS DE PLACA DENTOBACTERIANA

Es nuestro deseo primeramente, manifestar el motivo de la elección de este tema.

Como es sabido, en la cavidad oral se desarrolla una gran variedad de enfermedades, primordialmente el problema más grave que se presenta en el consultorio es el alto índice de caries, lo que nos ha motivado para estudiar el procedimiento de la misma y al mismo tiempo investigar experimentalmente el comportamiento de los microorganismos que la producen (Invitro).

Específicamente, nuestro trabajo se va a referir a la bacteria conocida como Streptococcus mutans, que es el principal formador de Dextranas, la cual predispone a la formación de caries.

A continuación describimos en forma somera, el método que utilizaremos para llevar a cabo nuestra investigación:

- a) Se tomará una muestra de placa Dento-Bacteriana por medio del instrumental de profilaxis, debi-

damente esterilizado, y se colocará en un tubo de ensayo que contenga caldo de infusión cerebro corazón, sellando perfectamente el tubo men-
cionado.

- b) Posteriormente se procederá a la siembra, en di-
ferentes medios de cultivo, y en especial para microorganismos aerobios que se dejarán incuban-
do el tiempo necesario en un cuenco estufa para su desarrollo.
- c) Una vez obtenido el desarrollo, se procederá a la identificación de las bacterias y al aisla-
miento de Streptococcus mutans.
- d) El paso a seguir es colocar la cepa en unos tu-
bos que contengan en su interior diferentes con-
centraciones de sacarosa para observar la forma-
ción de Dextranas.
- e) Después se procederá a colocar un diente previa-
mente lavado con suero fisiológico, al cual en su ápice se colocará un clip que irá adherido a un tapón de corcho que sirva como sellador de los tubos, dejándose incubando el tiempo requer-
ido para el desarrollo de las Dextranas que se fi-
jarán al diente antes mencionado.

Cuando se observe que haya una masa adherida al diente, se procederá a la identificación de las dextranas por medio de la enzima conocida como Dextranasa.

MATERIAL QUE SE USARA EN EL LABORATORIO

1. MEDIOS DE CULTIVO

Gelosa sangre

Eosina y azul de metileno (E.M.B.)

Manitol Salt. AGAR (110)

Infusión cerebro corazón (B.H.J.)

2. TUBOS DE ENSAYO DE 13 x 100 mm
3. ASA REDONDA Y ASA DE PICADURA
4. C L I P S
5. MECHERO
6. PORTA-OBJETOS
7. CUBRE-OBJETOS
8. ACEITE DE INMERSION
9. MICROSCOPIO
10. ESTUCHE DE PROFILAXIS
11. DIENTE
12. SUERO FISIOLÓGICO

Queda pues así, este modesto trabajo, a la consideración de la Honorable Junta Dictaminadora, esperando de su benevolencia la aprobación del mismo.

I N D I C E

I. C A R I E S

Definición
Clasificación
Teorías

II. F L O R A B U C A L

III. P L A C A D E N T O B A C T E R I A N A

IV. S T R E P T O C O C C U S M U T A N S

V. M E D I O S D E C U L T I V O

VI. D E S A R R O L L O D E L E X P E R I M E N T O

VII. C O N C L U S I O N E S

VIII. B I B L I O G R A F I A

C A R I E S D E N T A L

La caries dental no constituye solamente un problema actual, sino que se ha arrastrado a través de las épocas como una lesión que provoca innumerables problemas a quien la sufre.

En los primeros tiempos, cuando aún el hombre no existía sobre la tierra, la caries ya estaba presente en los animales que en aquella época reinaban sobre la superficie terrestre, y así encontramos la presencia de la caries dental en dientes fósiles de dinosaurios herbívoros, al igual que en los dientes de algunos mamíferos del mioceno. En épocas posteriores, correspondientes al pleistoceno, también se han encontrado caries en mastodontes de las cavernas y camellos de aquel período, al igual que fósiles humanos de mediados del mismo.

Se tienen referencias de la caries dental y otras enfermedades bucales en épocas antiguas en el Imperio egipcio, el imperio azteca y también en otras civilizaciones, pero no existen relatos y descripciones en detalle de esta enfermedad durante estos períodos.

Sin embargo, el tipo de caries que sufrían estos antecesores nuestros era bastante diferente del tipo de caries que presenta el hombre moderno, esto parece que se debe princip

palmente al tipo de dieta a que estaba sometido el hombre antiguo, compuesta de alimentos no refinados y abrasivos.

El tipo de caries actual generalmente comienza en los puntos y fisuras de las superficies oclusales, en las caras proximales del esmalte, en los puntos de contacto y en los tercios gingivales de las superficies lisas.

Las caries de puntos y fisuras son mucho más escasas en el hombre primitivo debido al aislamiento de las superficies triturantes de los dientes, como consecuencia de la alimentación de tipo fibroso y abrasivo de aquellas épocas.

Así, tenemos que la caries puede definirse como:

- a) - Un proceso patológico de origen bioquímico, lento; continuo e irreversible, que causa la destrucción de los tejidos dentarios.
- b) - También se define como una afección de los tejidos mineralizados de los dientes, caracterizada por la destrucción de las áreas de predilección como son: fosas, fosetas, fisuras, y surcos progresando hacia la pulpa.

CLASIFICACION

La clasificación de caries se ha hecho de diver-

estas formas, siendo la más común la que se basa en el sitio de ataque.

A) Caries de fosetas y fisuras.

Abarca caras oclusales de molares, surcos de molares, surcos de molares superiores e inferiores y caras palatinas.

B) Caries de superficies lisas.

Comprende cara bucal, cara lingual y caras proximales.

Otro tipo de clasificación, según su grado de proceso es:

A) Caries aguda o de avance rápido.

Sus características son: abertura pequeña en el esmalte, rápida penetración a través del esmalte y extensa complicación dentinaria; se encuentra en las zonas de mayor retención alimenticia (caras oclusales).

B) Caries crónicas o intermitente.

La abertura suele ser más grande que en el grado anterior. Su velocidad de penetración a través del esmalte y su complicación dentinaria no es tan extensa, es más común en las zonas lisas que en las zonas con defectos.

C) Caries de avance lento.

Se encuentra principalmente en adultos de baja susceptibilidad; la caries puede quedar confinada en el esmalte durante varios años y alcanzar eventualmente la unión amelodentinaria y progresar lentamente si no se trata.

D) Caries retenida.

Cuando una lesión cariosa deja de avanzar se le considera retenida. Se presenta tanto en esmalte como en dentina, siendo más común en el esmalte de las caras proximales, cuando el diente adyacente ha sido extraído quedando con la caries proximal sometida a auto-limpieza.

E) Caries rampante.

Es un tipo de caries repentina que produce una precoz complicación con la pulpa. Este tipo debe diferenciarse de la común, que resulta del descuido, pues ésta se produce en bocas aseadas, no se encuentra materia alba y residuos alimenticios; su característica más significativa es el hecho de que aparece en sitios más inmunes (caras proximales de dientes anteriores inferiores y zonas cervicales).

TEORIAS

Existen numerosas teorías expresadas sobre la iniciación de la caries dental. Sin embargo, la que ha tenido mayor repercusión entre los Investigadores de este complejo problema son solamente tres.

Su origen cronológico de aparición es el siguiente:

1. Teoría de Miller o quimioparasitaria.
2. Teoría de Gottlieb o proteolítica.
3. Teoría de Schatz y Martín o proteolisis-quelación.

La defensa crítica de cada una de estas teorías han levantado grandes polémicas que continúan actualmente, sin embargo, la evidencia experimental indica la conveniencia de explicarlas por orden de importancia y no atendiendo a su orden cronológico.

Se inicia el análisis por la que parece que tiene menos base de sustentación, hasta llegar a la que presenta mayor evidencia científica y que experimentalmente es valadera.

TEORIA PROTEOLITICA DE GOTTLIEB

Explica la iniciación de la caries dental por la destrucción o desintegración que hacen las bacterias proteolíticas de la matriz orgánica del esmalte, principalmente de las

lamellas (resquebrajamiento que a veces se observan entre los prismas del esmalte y se encuentran ocupados por materia orgánica).

Estas agrietaduras descubiertas por el mismo Gottlieb realmente existen, y él pensó que al destruirse esta malla orgánica interprismática se socavarían los prismas al quedar sin soporte, los que posteriormente se destruirían formándose la cavidad inicial.

Decididamente esta teoría no explicaba el verdadero fenómeno que ocurría en el diente. Sin embargo, sirvió para demostrar la existencia de las lamellas y comprobar que realmente son invadidas por las bacterias.

TEORÍA DE PROTEOLISIS - QUELACION DE SCHATZ Y MARTIN

A partir de la teoría de proteolisis, surgió la idea en algunos investigadores (Schatz y Martin) de que los productos finales de la acción proteolítica de las bacterias sobre la estructura orgánica del esmalte, liberaría ciertas sustancias llamadas quelantes, palabra ésta que deriva del griego - queia y que se refiere a las pinzas de las langostas. La sustancia quelante es pues un complejo químico que por sus valencias libres se apoderan del calcio y de otros iones metálicos que componen estructuras orgánicas.

En resumen, la teoría de la proteólisis quelación - propugna que la destrucción del esmalte dentario en la caries inicial se realiza por dos acciones simultáneas interrelacionadas: un ataque enzimático de los constituyentes orgánicos - del esmalte y una desmineralización más o menos simultánea de este mismo esmalte, iniciada por sustancias capaces de formar complejos con el calcio, las que surgen endógenamente por la degradación de los constituyentes orgánicos.

TEORIA QUIMIOPARASITARIA DE MILLER

A pesar de ser la más antigua, ha ido reafirmando su valor debido a que se ha comprobado experimentalmente la verdad de sus afirmaciones.

Esta teoría afirma que la caries dentaria se iniciaría por una descalcificación de la parte orgánica o prismas - del esmalte, debido a la acción de ácidos resultantes del metabolismo de las bacterias bucales, al usar un sustrato hidrocarbonado en la superficie del diente.

El esquema de la caries dentaria sería:

Bacteria + Enzimas + Hidratos de Carbono ---- Acidos
+ Esmalte ---- Descalcificación (caries).

Fuera de las tres teorías anteriormente enunciadas y

que responden en alguna medida para dilucidar los secretos de esta compleja enfermedad que es la caries dental, existen - otras teorías que no revisten mayor valor científico por tener escasa o ninguna comprobación experimental y que son:

A) Teoría endógena. (Propuesta por Csényei)

La caries sería el resultado de un trastorno bioquímico que comenzaría en la pulpa y que se manifestaría clínicamente en el esmalte y la dentina.

B) Teoría del glucógeno. (Enunciada por Egyedi)

Dice que la alta ingestión de carbohidratos durante el desarrollo de los dientes los haría a éstos más susceptibles a la caries, debido a que se depositaría glucógeno y glucoproteínas en exceso en la misma estructura del diente, en la apatita del esmalte y la dentina, con lo que el diente sería más vulnerable a la caries durante el período post-eruptivo.

Los ácidos de la placa convertirían este glucógeno y glucoproteínas en glucosa y glucosamina, luego - las bacterias invadirían los tramos orgánicos del esmalte y degradarían la glucosa y glucosamina a - ácidos desmineralizantes. Es una teoría altamente especulativa y sin fundamento experimental.

C) Teoría organotrófica. (Sostenida por Leingouber)

Esta teoría considera al diente como parte de un sistema biológico compuesto de pulpa, tejido duro y saliva.

Los tejidos duros actuarían como una membrana entre la sangre y la saliva.

Es un estado de equilibrio biodinámico. El mineral y la matriz del esmalte y dentina están unidos por enlaces de valencias homopolares; todo agente o sustancia capaz de destruir estos enlaces romperá el equilibrio y causará caries. Las pruebas en apoyo a esta teoría son muy escasas.

D) Teoría biofísica. (Por Neumann y Disalvo)

Postula que las altas cargas de la masticación producen un efecto esclerosante en los dientes. Estos cambios escleróticos se efectuarían presumiblemente por medio de una pérdida continua del contenido de agua de los dientes, conectado posiblemente a un empaquetamiento más apretado de cristallitos fibrilares. La validez de esta teoría no ha podido comprobarse por las dificultades técnicas de reproducir experimentalmente la esclerosis por compresión en el esmalte humano.

E) Teoría de la deshidratación. (Por Klein)

Asegura que la caries dental comenzaría por una deshidratación del esmalte dentario, provocada por soluciones higroscópicas al igual que las bacterias bucales que tienen una presión celular más elevada que el tejido dentario, y pueden quitarle el agua bajo la dirección de los Treponema vincenti.

La descomposición mineral se efectuaría por el ácido sulfhídrico, formado por la mayoría de las bacterias y que forman con agua un ácido débil (H_2SO_3).

La decoloración de las zonas cariadas se explicaría porque el azufre se combinaría con el hierro del esmalte y formaría sulfuro de hierro.

La transparencia del esmalte que se debe al agua que contiene el cristal de hidroxiapatita se perdería y corroboraría la particular opacidad que se observa en el esmalte con caries inicial. No hay evidencia científica valorable en apoyo de esta teoría, solamente está basada en una especulación.

Una vez enmarcadas las teorías cariogénicas, no

debe pasar inadvertida la conocida tríada de Keyes, la cual nos dice que: como la caries dental es una enfermedad multifactorial, existen, según Keyes, tres elementos que siempre deben estar presentes para que el fenómeno de la caries dentaria se produzca.

Estos factores o elementos son: Un huésped o terreno susceptible; Un sustrato fermentable, y un microorganismo responsable que sea capaz de tener acción hidrolítica sobre los carbohidratos.

M I C R O F L O R A O R A L

Los orígenes de la microflora oral se remontan a la iniciación de la bacterología misma.

Fue Leewenhoek quien llevado por su curiosidad investigadora observó en su primitivo microscopio un raspado de sarro dentario, descubriendo que pululaban en ella multitud de seres dotados de vida en movimiento.

Estas observaciones las hizo llegar a la Real Sociedad Científica de Londres en 1683, mediante cartas que contenían los primeros dibujos de los microorganismos de la boca, como constancia de este hecho.

Sin embargo, pasaron muchos años antes de que alguien sugiriera una asociación entre los microorganismos bucales y las enfermedades de los tejidos duros y blandos de la boca.

El verdadero padre de la microbiología bucal, W.D. Willer, discípulo de Kock, quien en 1863 publicó un trabajo sobre microbiología y microorganismos de la boca humana, dándole así su verdadero nombre, hizo observaciones serias acerca de su morfología e intentó cultivar estos gérmenes en medios apropiados, habiendo sido este factor el que había impedido a los investigadores un estudio más profundo de estos microorganismos.

Miller fue el primero en enunciar una teoría lógica y comprobable experimentalmente sobre la etiología de la caries dental: "La Teoría Quimioparasitaria", teoría que hasta el momento no ha sido desvirtuada y continúa en plena vigencia.

Desde albores de la ciencia bacteriológica, los investigadores se preguntaron si los gérmenes serían o no indispensables a la vida de los seres, efectuándose con este fin numerosas investigaciones para encontrar una explicación satisfactoria. En un principio se negó que se pudiera mantener la vida en absoluta esterilidad hasta que Wollman en forma experimental logró mantener y reproducir insectos y cuyos en estas condiciones. Sin embargo, al cabo de poco tiempo, éstos morían; sólo después de la Primera Guerra Mundial se encontró explicación a este hecho y era que al esterilizar los alimentos se destruían las vitaminas que son indispensables para el desarrollo y crecimiento de los seres.

Estos procedimientos para mantener a los animales en condiciones de absoluta esterilidad, fueron en sus comienzos bastante engorrosos, pues se utilizaban cámaras de acero muy complicadas. Este sistema se ha simplificado totalmente en la actualidad, siendo éstas cámaras metálicas reemplazadas por cámaras de polietileno en una adecuada tensión de oxígeno en su interior.

La cavidad oral soporta una abundantísima población microbiana que se relaciona entre sí y con el huésped que pululan normalmente en ella y que se llama Microbiota bucal, la cual vive en un estado de convensalismo con respecto a su huésped que es la boca.

El convensalismo consiste en una convivencia en la cual el convensal aprovecha las condiciones ambientales que le proporciona el huésped, sin producirle daño.

Conforman esta flora bucal dos tipos de microorganismos:

- A) Microorganismos transeúntes
- B) Microorganismos residentes

Los microorganismos transeúntes son aquéllos introducidos casualmente a la boca por medio de alimentos, agua, bebidas, dedos, etc. Son de una gran variedad y desaparecen rápidamente de la boca, debido aparentemente a que son incapaces de mantenerse en este medio o bien son rechazados por los microorganismos habituales o residentes normales de la boca.

Esta flora habitual se adquiere desde el momento del nacimiento. Sabemos que el niño antes de nacer está en una cavidad protegida por numerosas barreras que impiden el contacto de los microorganismos con el feto.

Al nacer el feto, al igual que su cavidad oral, es--

tá totalmente libre de microorganismos, pero a su paso por el canal membranoso se pone en contacto con los microorganismos vaginales de la madre, luego con las manos del médico y de las enfermeras que aportan su cuota de gérmenes, y posteriormente las condiciones ambientales, los alimentos, la saliva de la madre, etc., van contribuyendo a la formación de la flora bacteriana oral del lactante. Desde los primeros días de nacer hasta el momento de erupción de los primeros dientes, la flora habitual del niño es de tipo aerobio o anaerobia facultativa.

Se ha encontrado alrededor de 20 a 25 especies bacterianas diferentes que conforman este tipo de flora, entre ellas:

Cocos gram (+)

Staphylococcus epidermidis y St. aureus

Streptococcus

Bacilos gram (+) (Lactobacilos)

Esto es lo que se ha denominado flora de predentiación.

Estas condiciones de temperatura, humedad, presencia de sustrato alimenticio, obscuridad y oxígeno, que son altamente favorables para una flora aerobia, empiezan a variar debido a la extirpación de las primeras piezas dentarias, las que forman y representan pequeños resquicios y anfractuosidades donde se retienen restos de alimentos, se comienzan a dar entonces -

las condiciones precisas para el desarrollo de nuevas especies como son las bacterias anaerobias. Entre éstas podemos distinguir: bibriones, bacteroides melanínogenicus, espiroquetas, bo rrellias, bacilos fusiformes, actinoníces, leptothrix, etc. En esta flora normal pueden existir en la cavidad bucal, en la - flora de dentición, Amebas a las que no se les conoce hasta la fecha ningún poder patógeno. Se encuentran también algunos vi rus sobre todo el del Herpes simple, etc. Se ha logrado aislar además algunas formas PPL0 identificadas como el Mycoplasma sa livarius (polo = pleuro neumoneae like organism).

Como un resumen de esta flora de dentición, daremos al detalle la flora residente normal de la boca.

1. Staphylococcus (epidermidis y aureus)
2. Streptococcus (alfa hemolítico o viridans, St. mutans, St. salivarius, St. mitis)
3. Veillonellas (cocos gram (-) anaerobios)
4. Bacilos fusiformes
5. Espiroquetas bucales (asociación fuso-espiroquetal)
6. Bacilos difteroides
7. Enterococos (St. faecalis)
8. Neisserias
9. Lactobacilos
10. Levaduras (Candida albicans)
11. Leptotrichias
12. Actinomyces

Como se acaba de demostrar, esta flora residente normal de la boca, es muy variable y se encuentra repartida en diversas áreas de la boca, de acuerdo a las condiciones ideales que encuentra cada tipo de microorganismo para subsistir en convivencia en esta cavidad así:

En la superficie de los dientes:

Los microorganismos se desarrollan en sus caras lisas, formando parte de la placa bacteriana dentaria, entre ellos cariogénico (mutans), formas difteroides facultativas anaerobias, Veillonellas, Bacteroides, Fusobacterias, Vibrios, Neisserias. Se ha estimado que en un miligramo de material de placa bacteriana se encuentran entre 50 a 500 millones de bacterias.

En los surcos, puntos, fisuras y otras fallas estructurales del esmalte:

En estas zonas encontramos un franco predominio de especies tales como los lactobacilos y ciertas formas filamentosas que ayudan a formar una malla o trampa.

En el crevice dentario:

O sea el surco que queda entre el diente y la porción de encía libre, encontramos una gran abundancia de Streptococcus facultativos, Bacteroides melaninogenicus, Fusobacterias y formas espirales bucales. Todo este conjunto de microflora tiene un gran poder proteolítico.

Entre los *Streptococcus* facultativos que se encuentran en esta región, el más frecuentemente aislado fue el *Streptococcus viridans*, el que tiene gran importancia por su capacidad para establecerse y colonizar las válvulas o el endotelio bañado del miocardio a consecuencia principalmente, de una fiebre reumática anterior, lo que da como resultado una grave enfermedad llamada Endocarditis Bacteriana Subaguda.

Otro microorganismo que también se encuentra y que actúa de igual manera, es el *Streptococcus Faecalis*.

De más está el recalcar la importancia clínica que tiene el tratamiento clínico odontológico.

FLORA DE LA LENGUA.- En esta región de la boca también hay un franco predominio de los *Streptococcus* facultativos, variando así el representante que se encontró más frecuentemente y que en este caso corresponde al *Streptococcus salivarius*, seguido por *Veillonellas* y *Difteroide* facultativos, existiendo además gran cantidad de otras especies pero mucho menor proporción. Cabe hacer notar que la lengua proporciona la mayor parte de las especies bacterianas que forman la microbiota salival.

FLORA DE LA SALIVA.- También aquí el *Streptococcus salivarius* es el mayor representante de los gérmenes habituales de la saliva, al igual que otras especies presentes en la

flora normal de la lengua. Los lactobacilos representan el 0.1% de la microflora salival en condiciones normales.

Aunque las levaduras han sido frecuentemente aisladas de la cavidad oral, hay diferencia de opinión en cuanto si ellas son parte de la microflora normal de la boca; sin embargo, se les ha encontrado en un 50% de personas sanas y más frecuentemente en hombres que en mujeres, y más en niños que en adultos, y en algunos casos en que la saliva es de P.H. bajo, alrededor de P.H. 5.0, se aisló este microorganismo floral en un 100% de los casos, y de entre las levaduras aisladas, la *Candida Albicans* estuvo presente en un 90% de los casos.

También se ha encontrado otros microorganismos residentes habituales de la boca, tales como las Leptotrichias, además se encuentran ciertas especies de *Actinomyces israelii*, agente causal de la actinomicosis cervico-facial.

Asimismo, el *Odontomyces viscosus* ha sido encontrado en ciertas lesiones de caries de la raíz dentaria, formando parte, en algunas ocasiones de la placa paradencial. Se ha demostrado además la presencia de ciertas especies de protozoos, tales como *Entoameba gingivalis* y el *Trichomonas Tenax*, y ciertas especies de virus del tipo de los herpes virus.

No se ha comprobado que los protozoos que habitan en la boca produzcan algún tipo de lesiones en ella, sin embar-

go, se ven aumentados en número, en ciertos procesos de enfermedad periodontal en grado avanzado.

En estas condiciones anormales, alguno de estos microorganismos podfan ejercer su poder patógeno por los mecanismos ya conocidos, como su producción de enzimas, toxinas y su poder de encapsulamiento, dependiendo de ésto, la manera o modalidad que tiene el microorganismo para ejercer su virulencia y que es un rasgo caracterfstico de cada especie bacteriana patógena.

Se puede producir alteraciones del equilibrio - entre las especies bacterianas que habitan normalmente en la boca por causas ajenas, como la aplicación de un antibiótico - localmente, el que destruya ciertas especies dejando en libertad de reproducción a otras especies de microorganismos que - no son atacados por él, los cuales comienzan, naturalmente, a ejercer su poder patógeno y como consecuencia producen lesión o enfermedad.

Es importante que en el medio bucal y las bacteria: exista también un equilibrio estable. Hablaremos entonces que existe un estado de comensalismo (asociación biológica entre los microorganismos y el huésped, microorganismos que viven usufructuando de las condiciones que él ofrece, sin producirle daño_.

Se rompe este equilibrio, por ejemplo, en bocas sucias, descuidadas, donde hay gran predominio de la flora de tipo anaerobio y en bocas con gran cantidad de caries dentarias, en las que se produce un aumento exagerado de la flora acidógena.

También en condiciones fisiológicas anormales, como en las bocas de dentados totales que no usan prótesis, la flora residente se modifica enormemente en número y variedad, y es muy semejante a la flora del lactante.

Los factores que a veces rompen el equilibrio huésped-parásito, se clasifican en: Factores generales, Locales y Exógenos.

Un ejemplo de Factores generales sería el de un individuo diabético, enfermedad que predispone a dar cuadros superados por el aumento de azúcar en la sangre, sumándose a esto, la baja de defensas orgánicas del individuo.

Los factores locales serían los traumatismos, algunos producidos por el odontólogo o la irritación de los tejidos de los tejidos por la presencia de placa dentaria y tartaro dentario, y además mal ajuste de prótesis, obturaciones, etc.

La colocación de bandas, amarras, aparatos fijos y removibles de ortodoncia también constituyen un factor que altera las condiciones locales en los tejidos.

Los factores exógenos serían: el abuso del tabaco, alcoholes irritantes en general, etc.

CARACTERISTICAS DEL MEDIO BUCAL

En la cavidad bucal existen ciertas condiciones favorables para el desarrollo de las bacterias de la flora residente normal y no existe ahí un medio absolutamente hostil a ellas. En este caso, nos estamos refiriendo a las bacterias que normalmente habitan en la cavidad oral, porque en cuanto a las bacterias ajenas a ellas, no pueden establecerse allí debido a las condiciones defensivas de la cavidad bucal y a la acción competitiva de la flora habitual de ésta.

Ahora bien, en la boca encuentran los gérmenes una temperatura adecuada que esté o es más o menos de 37 grados centígrados, existe humedad, obscuridad y sustrato alimenticio correspondiente a los restos de alimentos que siempre quedan en las anfractuosidades y resquicios, determinados por ubicación y presencia de las piezas dentarias. Existe también un P.h. adecuado, alrededor de P.h. 7 neutro; estas condiciones naturalmente son dadas en boca sana.

La flora bucal normal de la cavidad oral, vive un perfecto equilibrio y cada especie fluctúa entre márgenes normales en una boca sana.

Estas fluctuaciones son diarias y siguen un ritmo regular o con un máximo de nivel en las mañanas, antes del desayuno, disminuyendo después de cada comida y subiendo el nivel entre ellas. Este fenómeno llamado por algunos "marea diurna" se produce por el efecto mecánico de arrastre de los alimentos, el mayor flujo de saliva, y la acción de limpieza de la lengua, carrillo y labio, lo que produce un aumento del paso de la flora de la cavidad oral hacia el tubo digestivo, con la consiguiente disminución transitoria de ellas en su habitat normal.

Como dato curioso se puede anotar que se ingieren por este mecanismo de arrastre de bacterias de la boca hacia el esófago y estómago aproximadamente 2.5 gramos de bacterias por día y se excretan por intestino recto alrededor de 60 gramos diarios. Esta ingestión de bacterias, su posterior destrucción en el estómago e intestino, y finalmente la absorción de sus componentes, constituyen verdaderas dosis vitamínicas ya que pasan al torrente sanguíneo polipeptidos, aminoácidos, hidratos de carbono y lípidos.

MECANISMOS DE DEFENSA DE LA CAVIDAD ORAL

Aunque la mayoría de los gérmenes que viven en la cavidad bucal son apatógenos, es decir, que en condiciones normales no le producen daño al huésped, éstos gérmenes tienen un mecanismo de multiplicación tan rápido que podría ser una

división celular aproximadamente cada media hora. Si los millones de microorganismos residentes de la microbiota bucal pudieran reproducirse sin limitaciones a este ritmo, al final del día la boca estaría prácticamente llena y rebosante de microorganismos.

La naturaleza, sin embargo, por varios mecanismos de control, limita la multiplicación exagerada de toda forma de vida y lo mismo rige para estos microorganismos a través de los llamados "Mecanismo de Defensa de la Boca".

Estos mecanismos son:

INTEGRIDAD DE LA MUCOSA

La integridad de la mucosa de la cavidad oral constituye en sí un mecanismo natural de defensa, desempeñando así la misma función que al resto de tegumentos del organismo.

La continuidad de la mucosa puede ser alterada por diferentes causas, como hacer una extracción dentaria, laceraciones provocadas por traumatismos, erupción dentaria, etc.

DESCAMACION DE LAS CELULAS EPITELIALES

Esta mucosa está formada por un epitelio plano, estratificado, sufre una constante descamación de sus células más externas; sin embargo, el ritmo de esta descamación no es constante puesto que aumenta en ciertos momentos fisiológicos

como durante las horas de comida, en la cual los movimientos masticatorios y la fricción del bolo alimenticio sobre la superficie de la mucosa determinan una descamación más rápida.- Estas células de la superficie externa de la mucosa oral son normalmente penetradas por los microorganismos habituales de la boca, los que quedan incluidos en el interior de ellas al producirse el desprendimiento de estas células, son arrastradas junto con su carga microbiana hacia el tracto digestivo.. Este fenómeno que se acaba de describir nos demuestra la gran importancia del proceso descamativo de la mucosa oral como un factor regulador de la población microbiana bucal.

La saliva desempeña una función importante entre las defensas naturales, principalmente por su "acción de arrastre".

El volumen de la saliva que un individuo secreta diariamente por el conjunto de sus glándulas salivales varía entre 1,000 y 1,500 ml., la mayor parte es producido durante las horas de comida. En circunstancias especiales este flujo puede disminuir notablemente, lo que trae graves consecuencias para la salud oral de la persona (enfermedades febriles y uso de tranquilizantes). Además de la acción de limpieza o arrastre que desempeña la saliva, realiza otra función igualmente importante:

a) Acción humedecedora y lubricante de los te

lidos blandos de la cavidad oral, que los mantiene flexibles y los previene de la desecación.

b) Conservación de la estructura físico química de los dientes, manteniéndolos húmedos y favoreciéndolos en su intercambio iónico, debido a su composición química.

c) Acción solvente, debido a que disuelve muchos alimentos molidos, nos ayuda a la apreciación del sabor de ellos mediante la estimulación de las papilas gustatorias, y por lo tanto, se vuelve a repetir la estimulación refleja de las glándulas salivales.

d) Preparación del alimento para la deglución.

El alimento es alterado por ella en su consistencia, es humedecido y lubricado, transformándolo en una masa plástica, la deglución sería prácticamente imposible en ausencia de la saliva.

e) Función Digestiva. La digestión del almidón comienza en la boca a través de la acción de la amilasa salival.

f) Regulación del Balance Hídrico. El desecamiento de la mucosa oral provoca la sensación de sed al igual que en la deshidratación orgánica y la pérdida de sangre.

g) Función excretora. Muchas sustancias como drogas, metales, alcoholes y antibióticos son excretadas en la saliva.

H) Acción hemoliente. Esta acción proporciona a la superficie de los tejidos bucales la suavidad de roca necesaria en los movimientos de fricción entre los diferentes tejidos, de acuerdo a la función que ellos desempeñan.

ACCION ANTIBACTERIANA DE LA SALIVA

La saliva, en su composición misma, contiene ciertas sustancias antibacterianas que actúan inhibiendo o destruyendo a los microorganismos. Entre ellas la más conocida es la "Lizozima", sustancia que fue descubierta en 1922 por Fleming. Es una sustancia corriente que se encuentra en la mayoría de los flúidos orgánicos como la saliva, secreción lagrimal, etc. Es una enzima "Mucopolisacarida - Proteínica" relativamente eficaz contra cepas de Neisserias, Sarcinas, Klebsiellas, Streptococcus, Staphylococcus y Mycobacterium.

Es una enzima en cuya actividad se ejerce sobre los mucopolisacaridos de la pared celular, particularmente la N-acetil-glusamina, siendo más sensibles las bacterias Gram (+) a las cuales transforma en protoplastos por eliminación de su parte celular.

Se han encontrado otros compuestos con características semejantes a la lizozima; uno de ellos es Termolábil y a la vez activo sobre algunos microorganismos resistentes a la lizozima.

Fuera de la Lizozima antibacteriana, hay muchas otras enzimas entre los componentes de la saliva, pero su acción fundamental es digestiva o de otra índole.

Coadyuvan a esta acción antibacteriana de la saliva otra serie de substancias que se encuentran disueltas en ella sin formar parte de su composición misma, entre éstos tenemos anticuerpos específicos y algunos factores inespecíficos.

Los anticuerpos específicos serían aquéllos del tipo globulinas, que son formadores de anticuerpos (plasmocitos), y que se encuentran presentes en el suero, pasando a la saliva a través de membranas mucosas. Estos anticuerpos son específicos para cierto tipo de bacteria que representan el antígeno. Los anticuerpos se unen exclusivamente en su antígeno respectivo inactivándolo. Se han encontrado que existen en la saliva anticuerpos contra el treponema de la sífilis, *Brucellas*, *Salmonella tífosa* y *Shigella Dysenteriae* y otros. A diferencia de estos anticuerpos específicos, los factores inespecíficos reaccionan frente a un espectro muy diverso de antígenos. Estos factores que actúan inespecíficamente forman el conjunto llamado Sistema Properdina.

Estas propiedades son seroproteínas de peso molecular alto, descubiertos en el año de 1954 por Pillmer y co

laboradores. Constan de una euglobulina que es la properdina - propiamente tal, la que a su vez contiene lípidos, carbohidratos, y fósforo. Presenta una acción bactericida contra ciertas bacterias gram (-), entre ellas las más susceptibles son las Enterobacteriaceas, y algunas gram (+) frente a los virus; este sistema es activo especialmente sobre el virus influenza, Herpes Simplex, los bacteriofagos anticoli, y antiestafilococcico. Estas properdinas ejercen una acción sólo en presencia de complemento y iones magnesio.

Hay que destacar que las properdinas no se pueden considerar como anticuerpos, esto lo demuestra el hecho de ser inespecíficos y de reaccionar con el Zomosán que es un hidrato de carbono obtenido de la pared celular de las levaduras, propiedad ésta que no tienen los anticuerpos. Esta propiedad de la properdina de formar un complejo con el Zomosán permitió separarlas del suero y comprobar que este complejo así formado, inactiva las propiedades bactericidas naturales del suero humano.

Existen también en la saliva unos elementos corpusculares que constituyen una importante barrera de defensa, éstos son los leucocitos células que ejercen su papel defensivo especialmente a través de su acción fagocítica.

Se ha comprobado que la saliva normal contiene de 2,000 a 4,000 (leucocitos) por milímetro, de esta cantidad apro-

aproximadamente el 20% son linfocitos y el 80% granulocitos. Estos leucocitos además de su acción fagocitaria, liberan enzimas tales como Lisozima, Fagocitina, Proteasa, Lipasas y Oxidasas.

Estos leucocitos se presentan enormemente aumentados en procesos infecciosos y lesiones de la cavidad bucal, demostrando así que son unas de las líneas principales de defensa de la cavidad oral. El paso de estos leucocitos hacia la cavidad bucal y la saliva sería a través de la mucosa bucal en general, debido a sus propiedades de Diapedesis, la que les permite atravesar las estructuras de los tejidos, deformándose y escurriéndose entre las células. Existiría un especial aporte de leucocitos a la saliva por parte del surco gingivo dentario o crevica.

PLACA BACTERIANA DENTARIA

Puede definirse como placa dentaria a la entidad microbiana organizada, proliferante y enzimáticamente activa, que se adhiere firmemente a las superficies de los dientes y que debido a su actividad bioquímica de tipo metabólico, es considerada el factor etiológico fundamental de la caries dental y de las parodontopatías.

Es importante insistir en la diferenciación entre el concepto placa bacteriana y otros depósitos dentarios, como sustancia ALBA, la cual es un depósito aparentemente igual a la placa bacteriana, pero fácilmente removible, pues carece de la adherencia y organización que son características fundamentales de la placa.

Se dice que la placa bacteriana dentaria es organizada porque desde su iniciación va pasando por diversas etapas en las cuales se agrega a su estructura inicial (*Streptococcus cariogénicos* que colonizan la capa de mucoproteínas y que producen dextrana) los diferentes componentes que le otorgan características especiales a esta placa un metabolismo activo y poder de crecimiento.

Se establece también en el interior de la pla-

TESIS DONADA POR D. G. B. - UNAM

ca un equilibrio ecológico, en el cual existe un constante sinergismo y antagonismo bacteriano entre las diferentes especies; esta organización es tan extremadamente elaborada que a diferentes profundidades en la placa encontramos distintas condiciones ambientales que favorecen el desarrollo de algunas especies bacterianas e inhiben el desarrollo de otras.

La adherencia es debida al dextran producido por los primitivos formadores de la placa (*Streptococcus cariogénicos*), el cual es un polisacárido extracelular del organismo y que forma la estructura fundamental de la placa. En consecuencia, la adherencia es el resultado de la alta organización de la placa.

IDENTIFICACION DE LOS MICROORGANISMOS CONSTITUYENTES DE LA PLACA DENTARIA

La placa dentaria está constituida en un 70% de su volumen por microorganismos, y el 30% restante de elementos no microbianos, tales como mucina salival, restos alimenticios y células descamadas.

La identificación de los microorganismos que constituyen este 70% se basa en análisis bacteriológicos de morfología y tinción de gram, y ciertos análisis bioquí-

nicos de sus propiedades fisiológicas, distribuidos en el siguiente cuadro porcentual:

	ESTREPTOCOCCO FACULTATIVO	27%
GRAM (+) 81%	DIFTEROIDE FACULTATIVO	23%
	DIFTEROIDE ANAEROBIO	18%
	PEPTOSTREPTOCOCCO	13%
	VEILLONELA	6%
GRAM (-) 19%	BACTEROIDES	4%
	FUSOBACTERIAS	4%
	NEISSERIAS	3%
	<u>VIBRIO</u>	2%

La identificación así conseguida de estos microorganismos, no permitió distinguir algunas especies que componen menos del 1 al 2% del total.

Entre los estreptococos aislados, ninguno correspondió al *Streptococcus Salivarius*, lo cual es comprensible pues este germen no predomina en la placa sino que es un huésped habitual de la flora de la lengua y saliva, no así de la superficie del diente.

Basándose en observaciones hechas en el microscopio de campo obscuro se comprobó que las espiroquetas bucales comprenden menos del 0.1% del total de los microorganismos constituyentes.

Se cree actualmente que la responsabilidad de reproducción de una placa dentaria adherente, difícil de remover y causal de la iniciación del proceso de la caries del esmalte, recae en el estreptococo cariogénico o formador de placa.

El proceso de caries ^{se} iniciaría como consecuencia del metabolismo que se produce en el interior de la placa dentaria al utilizar los microorganismos los hídratos de carbono, principalmente azúcares, liberándose ácidos de gran poder desmineralizante tales como ácido - acético y butírico.

Hay que considerar también la protección física que la misma placa dentaria proporciona a estos ácidos - frente al poder neutralizante de la saliva; estos ácidos de esa manera comenzarían la descalcificación del esmalte produciendo así la caries inicial.

Esta placa adherente formada por el estreptococo cariogénico servirá de base y proporcionará un ambiente adecuado, según el lugar de la pieza dentaria en que se encuentre, para la proliferación de numerosas especies bacterianas. En los puntos, fisuras y otras hallas estructurales del esmalte se producirán las condiciones

adecuadas para la proliferación abundante de ciertas especies bacterianas fuertemente acidógenas tales como el lactobacilo acidófilo; es así como este microorganismo es encontrado en caries iniciadas en los lugares citados anteriormente y se le ha considerado como el factor etiológico fundamental de este tipo de caries. A su vez, cuando esta placa se forma a nivel del cuello dentario, prolifera hasta el crevice, produciéndose ciertas condiciones especiales, entre ellas un ambiente anaerobio que permitirá la multiplicación de especies cuyo metabolismo es altamente proteolítico.

Esta flora especial se compone principalmente por bacilos fusiformes, espiroquetas, micro y macro dentium, borrelia vicenti y bacteroides melaninogenicus y formas filamentosas tales como los actinomicos y leptotrix bucalis, cladothrix bucalis y odontomyces y viscosus.

Como se ha dicho, esta flora es agregada a la placa dentaria original que está formada por el estreptococo cariogénico formador de placas, cuya proliferación sobre la superficie del diente forma defensas macrocolonias cuyas características de adherencia y firme consistencia son causadas por el polisacárido extracelular -- "DEXTRAN" producido por esta variedad especial de estreptococo.

tococo, cuando existe en el medio el sustrato sacarosa. Wood y Critchley dicen que la síntesis de polisacárido, tanto intra como extracelular, a partir de la sacarosa, parece ser la mayor actividad de la placa. Otro polisacárido extracelular que produce algunos estreptococo y formas filamentosas como el *Odontomyces*, es el "LEVAN", sin embargo, no tiene la importancia del Dextran debido a que es fácilmente metabolizado por la mayoría de las bacterias bucales para obtener energía a partir de él.

El estreptococo cariogénico, además, almacena en el citoplasma un polisacárido intracelular en forma de gránulos de glucógeno o amilopectina. Esta acumulación de polisacáridos intracelular empieza tres minutos después de un enjuagatorio con sacarosa.

Se ha comprobado que la habilidad para almacenar el polisacárido intracelular es una cualidad estable en las cepas del estreptococo formadores de placa o cariogénico, no siendo ésto así en las otras variedades de estreptococos bucales.

Para conocer la capacidad del estreptococo cariogénico para generar ácidos a partir de diversos hidratos de carbono, especialmente de sacarosa, se realizó el siguiente experimento in vitro:

- Depositando placa dentaria sobre un electrodo de vidrio medidor de P.H. al agregar una solución de sacarosa al 5% del P.H., bajó a 5.0 y 4.5, luego el electrodo se puso en una solución Buffer o neutralizante pero el P.H. de la placa permaneció a niveles bajos por lapso de tres horas.

Se demuestra así la importante función que realiza la placa dentaria para permitir la acción prolongada de los ácidos de actividad descalcificante sobre la superficie del esmalte dentario.

El estreptococo cariogénico o formador de placa es capaz de producir ácido no sólo de sacarosa sino también de otros hidratos de carbono, pero sólo a partir de la sacarosa se produce dextran.

ETAPAS DE FORMACION DE LA PLACA DENTARIA

Sobre toda pieza dental expuesta al medio bucal aunque haya sido prolijamente escobillada, al cabo de algunos minutos se deposita sobre ella una capa celular mucinosa, libre de bacterias, es lo que se ha dado en llamar la primera etapa de formación de la placa o "Cutícula dentaria", la cual está compuesta principalmente de -

mucoproteínas, ésta cutícula permanece pocos momentos l
bre de gérmenes pues diversas formas bacterianas, princil
 palmente estreptococos cariogénicos, se agregan a ella y
 la colonizan, comenzando a elaborar un polisacárido ex-
 tracelular de alto peso molecular y de una viscosidad y
 adherencia muy grande, el dextran y lo produce a partir
 de la sacarosa exclusivamente; el dextran confiere a la
 placa dentaria de la sustancia alba acumulación desorga-
 nizada de detritus, células descamadas, etc. A medida -
 que pasan los días se van agregando otras diversas espe-
 cies bacte rianas como son lactobacilo y flora anaerobia
 gran (+) y gram (-), y entre los 4 y 10 días ya tenemos
 la tercera etapa de formación de la placa que es la deno-
 minada "Placa Madura".

Las g licoproteínas salivales es-
 tán formadas por la unión de tres componentes: El grupo
 prostético trisacárido; El grupo polipeptido; y el Acido
 Siálico.

ACETIL NEURCAMINICO

GRUPO PROSTETICO
 TRISACARIDO

O

AC. SIALICO

GLICOLILNEURAMINICO

POLIPEPTIDO

ESQUEMA DE LA CONSTITUCION DE LA
GLICOPROTEINA SALIVAL.

FORMACION DE LA MUCOPROTEINA SALIVAL

NAURAMINADASA

GRUPO PROSTETICO TRISACARIDO

POLIPEPTIDO

AC. SILAICO: Libre que
es rápidamente metaboli-
zado por las bacterias
bucales

MUCOPROTEINA: Menos
viscosa, insoluble -
y con tenencia a -
precipitar

La enzima neuramidasa, producida por la mayoría de las bacterias bucales, rompe la unión entre el ácido silícico y el grupo prostético trisacárido y el grupo polipeptídico, lo cual reduce la viscosidad y tiende a precipitar las moléculas haciéndolas insolubles; este fenómeno es irreversible.

Es importante hacer notar también que la alta viscosidad de la molécula de glicoproteínas está condicionada en gran parte por las cargas negativas que le confieren los átomos terminales del grupo carboxilo del ácido silícico.

ESQUEMA DE LA FORMACION DE LA PLACA BACTERIANA
DENTARIA

GLICOPROTEINAS DE LA SALIVA

AC. SIALICO

NEURAHINADASA

ENZIMA PRODUCIDA
POR LA MAYORIA DE
LOS GERMENES BUCA
LES

MUCOPROTEINAS

CUTICULA

PELICULA

SE AGREGA STREPTO-
COCOS CARIOGENICOS

DEXTRAN

SACAROSA SUSTRATO
INDISPENSABLE PARA
QUE EL ESTREPTOCO
CO PRODUZCA

PLACA DURA

SE AGREGA LACTOBA-
CILOS Y FLORA
ANAEROBIA

PROPIEDADES DE LA PLACA DENTARIA MADURA

La placa dentaria madura es una estructura o formación organizada que como tal, presenta diferentes propiedades que son importantes para comprender el fenómeno de formación de caries dentaria y enfermedad paradencial.

Adherencia: Se adhiere firmemente al diente debido a su alto contenido de polisacárido extracelular del tipo dextran, y Levan, Wood y Critchley; comunicando los resultados de su trabajo indican que aproximadamente el 30% de la matriz de la placa está formada por hexosas cuyos mayores componentes después de la hidrólisis son glucosa y fructuosa, que a su vez son componentes del polisacárido dextran extracelular.

Se ha observado que los microorganismos capaces de formar placa adherente en cultivos puros son el *Streptococcus mutans* y otra variedad de estreptococos bucales cariogénicos, el *Odontomyces viscosus* y el *Actinomyces naeslundii*; sin embargo, se ha comprobado que algunas especies habituales no formadoras de placa en cultivos puros, son capaces de interactuar entre ellas para formar una placa adherente con un contenido significativo de un polisacárido extracelular en base a fructuosa, probablemente levan.

los microorganismos bucales capaces de actuar de esta forma in vitro fueron:

- a) El Streptococcus pyogenes
- b) Streptococcus salivarius
- c) Streptococcus mitis
- d) Neisseria catarrhalis
- e) Staphylococcus aureus
- f) Streptococcus faecalis
- g) Candida albicans

Protección: Esta placa así organizada, les proporciona a los microorganismos componentes de ella, protección frente a los agentes antibacterianos y mecanismos defensivos propios de la cavidad oral, tales como el flujo salivario que actúa con su acción mecánica de arrastre hacia el esófago y estómago, anticuerpos con disolución de saliva del tipo neutrófilo, lisozima.

Factor nutricional: Considerando a la placa bacteriana como una formación enzimáticamente activa, las bacterias que la componen a excepción del estreptococo cariogénico o productor de dextran, todos los microorganismos componentes encuentran un sustrato alimenticio.

A esta abundancia de sustrato que encuentra

la flora acompañante del cariogénico, se contrapone la ausencia casi absoluta de sustrato fermentable a que están sometidos los estreptococos cariogénicos que están en la profundidad de la placa.

Estos estreptococos al encontrarse en un estado de privación nutricional empiezan a consumir sus reservas de carbohidratos acumulados en su citoplasma en forma de gránulos intracelulares que corresponden a polisacáridos del tipo de la amilopectina.

Anaerobiosis: La protección de la estructura de la placa dentaria misma concede a los microorganismos integrantes, aislándolos del medio ambiente bucal, sumada a las reacciones fisicoquímicas producidas como consecuencia del activo metabolismo de las bacterias componentes de la placa, condicionando un ambiente de relativa anaerobiosis total en la profundidad.

Cuando esto sucede, gérmenes que habían estado en una relativa minoría en composición polimicrobiana de la placa, anaerobia estricta. Todos estos cambios en la flora ocurren en forma lenta y progresiva.

Agresión: Es importante tener presente que las bacterias componentes de ella y de las que constitu-

yen la flora normal de la cavidad oral, por lo general no son patógenas y se mantienen en un estado de comensalismo con el huésped a menos que ciertas circunstancias externas o ajenas al microorganismo favorezcan el desarrollo exagerado de algunas especies bacterianas, estos factores pueden ser falta de higiene, dieta alimenticia inadecuada, malos hábitos masticatorios, etc.

Los gérmenes al estar viviendo reunidos forman un conglomerado que produce una alta actividad metabólica por lo cual liberan una gran cantidad de enzimas tanto glucolíticas como proteolíticas con el fin de consumir el sustrato que le ofrece el medio ambiente.

Calcificación: La placa dentaria es considerada comúnmente dinámica y por lo tanto evoluciona a través de un proceso que consta de formación, crecimiento o desarrollo y degeneración; la última etapa que hemos considerado, es la propiedad de calcificarse que tiene la placa madura, dependiendo de dos factores:

a) Características físicoquímicas del medio donde se encuentran estas placas.

b) Propiedades intrínsecas de ciertos microorganismos de calcificar su protoplasma y precipitaciones de sales calcáreas en los espacios interbacterianos.

Estos factores han servido de base para formular las teorías de la formación del tártaro dentario:

- a) La físico-química
- b) La bacteriana

STREPTOCOCCUS MUTANS

En la actualidad se ha volcado el interés de los investigadores en grupo de *Streptococcus cariogénico*. El *Streptococcus mutans*, uno de los grupos ecológicos dominantes en las acumulaciones bacterianas que dan origen a la placa dentaria sobre la superficie de los dientes. Sus características morfológicas varían notablemente de un traspaso de un medio de cultivo a otro, lo que es debido a que genéticamente es una especie heterogénea.

En experiencias hechas en monos por Cohen y colaboradores en Inglaterra, utilizando vacunas para provocar una respuesta inmunológica contra el *Streptococcus mutans*, han obtenido resultados sumamente alentadores en cuanto a una drástica reducción en el número de cavidades de caries en los animales vacunados e infectados, con respecto a animales no vacunados e infectados.

Esto demuestra que vacunando contra el *Streptococcus mutans* se puede obtener un descenso notable en el número de caries dentaria, al menos en animales de experimentación.

Un trabajo hecho por Bratthall, llega a la conclusión de que las cepas del *Streptococcus mutans* pueden

ser separadas en cinco grupos serológicos y que la diferencia puede ser hecha rápidamente mediante la técnica de la inmunodifusión en agar.

La capacidad de un *Streptococcus* cariogénico puede variar, pudiendo perder totalmente esta capacidad. Esto era un fenómeno que desconcertaba a los investigadores del tema, sin embargo, al menos en parte, este misterio va siendo revelado. Se observó en algunas cepas de *Streptococcus mutans* que estaba infectada con un bacteriófago. Esta cepa al ser introducida ya sea con la luz ultravioleta, mitromicina, nitrosguanidina y estreptomina, se lisaron, liberando un virus con morfología semejante. Este fenómeno no sucedió con otras cepas no cariogénicas. Todo esto induce a pensar que la capacidad que tiene el *Streptococcus* formador de placa, de producir la lesión cariosa, podría ser debida a un bacteriófago, al igual que el *Streptococcus* beta-hemolítico de producir la toxina que produce o la capacidad de virulencia del *Corynebacterium diphtheriae*, que también son debidas a un fago (lisogénico).

Medio selectivo para la identificación del *Streptococcus mutans*: Es un medio mitis-salivarius con una concentración de sacarosa incrementada a un 40%. A causa de sus propiedades inhibitorias, el medio fue menos eficaz que

al mitis-salivarius corriente para la determinación numérica del Streptococcus mutans de la placa dental o de un cultivo puro. Sin embargo, los Streptococcus mutans, producían colonias fácilmente reconocibles aunque numéricamente en menor cantidad.

Medio selectivo agar BCY: Es un medio para el reconocimiento del Streptococcus mutans.

Contiene casitone y cisteína, pero no sangre; permite en anaerobiosis un desarrollo del Streptococcus mutans 50% mayor que en mitis-salivarius.

Produce una forma colonial que se distingue de las otras bacterias; son blancas y relativamente planas de superficie, brillantes y redondas, con un contorno delgado de 1.5 mm de diámetro, radiadas y con líneas concéntricas.

POLISACARIDOS INTRA Y EXTRACELULARES DEL STREPTOCOCCUS CARIOGENICO

Los polisacáridos son macromoléculas de alto peso molecular, cuyas unidades estructurales son azúcares simples. Se podría decir que son polímeros de azúcares. Los polisacáridos producidos por el Streptococcus cariogénico se han clasificado en dos grupos: Intracelulares y Extracelulares.

Polisacáridos extracelulares.

Los polisacáridos extracelulares producidos por cepas de *Streptococcus* cariogénico y no cariogénico son el dextran y el levan.

Ambos son producidos por enzimas exógenas de los microorganismos y ambos derivan de la sacarosa, el dextran, de la fracción glucosa de la sacarosa y el levan de la fracción fructuosa. Para que las unidades glucosa (dextrosa) se enlacen para formar una cadena larga y ramificada de dextran, al igual que las unidades fructuosa para formar el levan, se requiere el rompimiento de enlace glucosídico de la sacarosa, el cual liberará la energía necesaria para la síntesis del polisacárido extracelular mediante la activación del fosfato enzimático extracelular bacteriano. Este enlace glucosídico es propio de la sacarosa la cual es una alfa-glucopiranososa, estructura cíclica unida con enlace glucosídico 1-4 a la beta fructofuranososa, también estructura cíclica en posición lineal.

Los polisacáridos extracelulares son fácilmente precipitados con etano al 95%.

a) Dextran: Es un polímero de la glucosa, un polisacárido de alto peso molecular y ramificado, producido por el *Streptococcus* cariogénico.

Polisacárido intracelular al peso seco. Esta síntesis de glicógeno en la célula bacteriana, parece suceder cerca de la membrana celular, ya que estos gránulos, en las primeras etapas de la acumulación, fueron localizados a este nivel.

El polisacárido intracelular tiene ciertas propiedades, como su indofilia, es decir, se tiñe con soluciones de yodo o lugol, lo cual demuestra la calidad de glicógeno amilopectina de estos gránulos ya que al agregar el yodo a una colonia, estos gránulos del interior de la bacteria se tiñen de coloración rojiza café, típica de la reacción amilopectínica con yodo. Esto le confiere a la colonia un moteado de este mismo color.

El polisacárido en sí es de un color blanquecino altamente soluble en agua.

Este polisacárido no es susceptible al ataque de enzimas extracelulares, lo que fue comprobado por Gibbons y Kapsimalis mediante el tratamiento de células bacterianas intactas con alfaamilasa, enzima hidrolítica de los almidones. Este tratamiento no reducía la capacidad de las células de teñirse con yodo, sin embargo, las células bacterianas ya lisadas y tratadas con la misma enzima, rápidamente se ponían acromogénicas con el yodo, puesto que el carbohidrato había sido o estaba siendo hidrolizado por la enzima.

El carbohidrato intracelular almacenado por el germen en forma de gránulos corresponde a un substrato de reserva que éste tiene para obtener su energía metabólica, mediante su utilización en el caso de que falte el substrato en el medio ambiente exterior.

Este fenómeno fue comprobado por Gibbons con una cepa de *Streptococcus mutans*, al cual se le dejó sintetizar el polisacárido a partir de glucosa marcada (C-14) por 20 u 30 minutos. Luego las células bacterianas fueron lavadas tres veces para liberarlas de la glucosa residual y después suspendidas en una solución de caldo neutro libre de azúcares.

Las suspensiones fueron incubadas por un tiempo, y luego se inactivaron las células con etanol. Al medir nuevamente la radiactividad, se detectó pérdida de ella por parte de las células, lo que era indicativo de catabolismo del polisacárido.

Al producirse el ^{cat}catabolismo del polisacárido intracelular, ocurren cambios en el pH debido a la conversión del glucógeno en ácido láctico, lo que acidifica el medio. Es así como el carbohidrato intracelular proporciona al germen una fuente de energía de crecimiento cuando está privado de una fuente exógena de energía.

Polisacáridos Intracelulares.

Son gránulos citoplasmáticos localizados cerca de la membrana celular y que tienen un diámetro de 600 A. No se sabe bien si son formados por la membrana celular a partir de azúcares, principalmente fructuosa, que resulta de la hidrólisis de la sacarosa. Cada gránulo parece representar una macromolécula del tipo glicógeno o amilopactina. Critchley y colaboradores, demostraron que la acumulación de polisacáridos intracelulares por cepas de Streptococcus bucales, sucede solamente tres minutos después de un enjuagatorio con sacarosa.

Existe una diferencia notable entre las cepas de Streptococcus cariogénicos y no cariogénicos con respecto a la facultad de acumular polisacáridos intracelulares, ambos al igual que la mayoría de las bacterias cultivables de la placa, las cepas cariogénicas fueron generalmente estables en esta habilidad; tal como fue demostrado por Berman y Gibbons, mientras que las cepas no cariogénicas casi invariablemente daban origen a células que habían perdido estabilidad.

La capacidad de almacenar carbohidratos intracelulares es tan grande en algunas cepas, como las del Streptococcus mitis, en que más del 90% de glucosa asimilada es convertida en polisacárido intracelular. Esta acumulación prolongada produce células bacterianas que contienen sobre el 50% de po-

Wilkinson citando a Jeanes dice que éste ha encontrado dextran producido por 96 cepas bacterianas y que los ligámenes, en cada uno de los dextranes sintetizados por ellas, aparecen con la posición de los enlaces diferentes.

El dextran es entonces una cadena de estructuras cíclicas de glucopiranosas unidas, ya sea por enlaces 1-3 o 1-4 y sus ramificaciones están ligadas a la cadena lineal principal con enlaces 1-6.

Algunas cepas de *Streptococcus carlogénico* producen un dextran que contiene en su estructura una pequeña cantidad de fructuosa, lo cual fue revelado por estudios de cromatografía. Al encontrar a veces estos dos azúcares juntos en el medio, el *Streptococcus carlogénico* debería sintetizar el dextran, lo que no fue posible obtener, con lo que se comprueba la necesidad de que esté presente la molécula completa de sacarosa, además, se demostró que ni la glucosa ni la fructuosa actúan en forma competitiva con la sacarosa.

En cuanto a sus propiedades físicas, tiene una gran

adhesividad, lo que proporciona al microorganismo adherencia a las superficies sólidas uniéndolo a ellas y ligando las cadenas del microorganismo entre sí, pues se fija a receptores específicos de la superficie del gárgen, confiriendo dureza y adhesividad a la colonia, [✓] pues las cadenas microbianas quedan embebidas en una matriz gelatinosa, conformando las llamadas macrocolonias. Se ha encontrado que el dextran se adhiere a la hidroxiapatita en polvo, la cual era cubierta con saliva, lo que sugiere su habilidad para adherirse a la superficie de los dientes de la boca. Otra particularidad es que no se tiñe con el yodo y es insoluble en agua, es no dializable y por lo tanto, no puede ser aprovechado como metabolito por otras bacterias orales, ya que forma complejos insolubles al entrar en contacto con carbonatos, fosfatos o proteínas. Todo demuestra que es un compuesto biológico y bioquímicamente estable dentro de la cavidad oral, lo que está indicando que su función es la de formar una matriz o malla.

La síntesis del dextran a partir de la sacarosa, ocurre por la acción de la dextransacarasa, enzima que rompe la molécula de sacarosa, en el lugar de los enlaces glucosídicos, liberando la energía necesaria para la formación del polímero de la glucosa o dextran; sin embargo, esta acción es más compleja y como se sabe, esta enzima transfiere la fracción glucosa directamente de la sacarosa a una primera molécula pre

existente de glucosa liberando fructuosa del sustrato y formando así el polímero.

El dextran de alto peso molecular produce fenómenos de aglutinación muy característicos con el Streptococcus mutans, fenómeno no observado con otras especies bacterianas, incluyendo microorganismos formadores de dextran. Esta aglutinación se debería a la presencia de receptores específicos en la superficie de la célula bacteriana, que unirían las moléculas de dextran. Sin embargo, esto ocurre solamente con moléculas de dextran de alto peso molecular y no con otros dextranes de menor peso, ya que se necesita una cadena molecular lo suficientemente larga para unir dos células bacterianas simultáneamente para que comience la aglutinación.

Se ha observado que sueros anti-preparados contra microorganismos desarrollados en glucosa, contienen apreciables cantidades de anticuerpos antidextran.

La enzima que es capaz de hidrolizar el dextran es la dextranasa, enzima producida por el Penicillium funiculosum, enzima que actúa a nivel de los enlaces del dextran.

b) Levan: Es un polímero de la fructuosa fracción de la sacarosa, se compone de una cadena lineal de estructuras cíclicas de Beta-fructofuranosa con enlaces en posi-

ción Beta 2-6. Los levanes de alto peso molecular se presentan muy ramificados, teniendo enlaces Beta 2-1 en los puntos de unión de la rama con la cadena.

El *Streptococcus cariogénico* con la mayor parte de la fructuosa obtenida la transforma inmediatamente en energía o es sintetizada en un polisacárido intracelular, y sólo una pequeña parte es transformada en este polisacárido extracelular de alto peso molecular y ramificado que es el levan.

Esta utilización se hace también por otros *Streptococcus* bucales no cariogénicos y algunas especies filamentosas. El levan le confiere también a la placa dentaria ciertas condiciones de adherencia, sin embargo este polisacárido es fácilmente hidrolizado por los *Streptococcus* de la placa dentaria. De Costa y Gibbons encontraron que capas de *Streptococcus cariogénico* productores de dextran tenían la habilidad también de hidrolizar el levan. La manera de actuar, sería liberando mediante una enzima levanasa, las ramificaciones de fructuosa de la cadena del levan, lo que produciría una continua liberación de fructuosa en la placa dental. Estos *Streptococcus* pueden producir fructuosa a partir del levan en la superficie de la célula donde puede ser rápidamente utilizada.

Se ha encontrado también que altas concentraciones de glucosa en el medio inhiben la acción de esta enzima, lo que serviría para regular el catabolismo del levan.

El producto final del catabolismo del levan para obtener energía es el ácido láctico.

Se concluye de esto, que si en la placa dental se sintetiza y también se utiliza rápidamente a los levanes, parecería que este polisacárido en la placa es capaz de funcionar como un compuesto de carbohidrato de reserva.

A pesar de que se ha considerado que la habilidad de formar dextran es la que otorga primordialmente la característica cariogénica al *Streptococcus*, algunos microorganismos que sólo forman leván han sido encontrados responsables de formar placa y caries, entre ellos podemos nombrar al *Odontomyces Viscosus* capaz de inducir caries de la raíz y enfermedad periodontal en hamster, y el *Streptococcus salivarius*, el cual induce acumulación de placa y caries en hamster, aunque a un ritmo muy lento.

c) Caries de la raíz dental: Parece ser una entidad aparte de la caries coronaria, según ha sido revelado por experiencias y observaciones hechas en animales de experimentación y en el hombre.

Según investigaciones realizadas en el hamster sirio, éste puede desarrollar caries de la raíz, que se asemeja a la lesión de caries en el diente humano, bajo la acción de una

placa dentaria densa, que cubre y se adhiere a la
de la corona de los molares del hamster.

Esta lesión se obtiene a partir de la interacción
de una dieta cariogénica, con una alta proporción de sacarosa y
una forma difterolide y filamentososa, el *Odontomyces Viscosus*.

Es curioso observar que el esmalte no se desinte-
graba bajo los densos y adherentes depósitos de placa dentaria,
pero si lo hacía el cemento de la raíz.

Esta forma filamentososa u *Odontomyces Viscosus*, for-
ma depósitos adherentes cuando es sembrado en medios de cultivo
que contienen sacarosa, almidón y otros azúcares, bajo condicio-
nes de estricta anaerobiosis; estos depósitos adherentes se fi-
jan en alambres de acero inoxidable, en el vidrio o plástico. -
También produce un polisacárido extracelular al levantar y ácido -
láctico.

Mulvihill et al.- Al hacer estudios sobre cambios
patológicos del periodonto en ratas arroceras, han observado -
que existían depósitos de placa dentaria sobre la raíz de los
dientes y algunos individuos mostraban las lesiones típicas de
la caries de la raíz, no existiendo en ninguno lesión del esmal-
te dentario bajo las condiciones en que se hizo el experimento.
Se llegó a la conclusión de que esta lesión era provocada por -
un microorganismo transmisible y que la sacarosa y la glucosa -

favorecían más esta situación que la maltosa y la harina de trigo.

Ha sido observado clínicamente y sólo ocasionalmente reseñado en estudios epidemiológicos en el hombre, que la caries de la raíz puede existir independientemente de la caries de la corona dentaria.

Mehta y Schroff en un estudio epidemiológico sobre enfermedades bucales en aborígenes en La India, comprobó la existencia de caries radiculares en personas ancianas que casi no presentaban caries coronarias y vivían en condiciones primitivas, alimentándose principalmente con arroz y maíz.

Con estas experiencias se demuestra que en tres especies animales al menos, el hombre, el hamster sirio y la rata arrocera, la caries radicular puede aparecer independiente de la caries de la corona dentaria.

La identificación de estas especies filamentosas presentes en la placa dentaria gingival e intragingival es muy difícil, pues su estudio no ha sido sistematizado y se ha encontrado un gran número de ellas.

Jordan y Hammond identificaron varias especies, que se encontraban presentes en nuestras lesiones cariosas de la raíz dentaria en dientes humanos extraídos.

Lograron identificar cepas como el Actinomyces viscosus, Rothia dentocariosa, Actinomyces naeslundii, Actinomyces eriksonni. Sin embargo, un tercio de las especies filamentosas no pudo ser identificada de acuerdo a la información que se tenía.

La identificación se hace principalmente por características morfológicas y bioquímicas, Inmunofluorescencia y difusión en gel de agar.

Algunas características generales de las bacterias filamentosas son las siguientes:

a) Su cuerpo en la placa dentaria es colonizado por formas cocáceas. Estudio que fue realizado observando muestras de placa dentaria madura al microscopio electrónico.

b) Se desarrolla en medios enriquecidos con sales minerales y sueros orgánicos, en ambientes de estricta anaerobiosis.

c) Su morfología es de un filamento que puede alcanzar varias decenas de micras de largo, algunas veces ramificados.

d) Fermenta varios azúcares y es un gran productor de un polisacárido extracelular: el leván, sobre todo el Actinomyces viscosus tiene esta capacidad en gran medida, por eso se

ha señalado como el supuesto agente causal de la caries dentaria radicular.

Ratas gnotobióticas monoinfectadas con cepas aisladas identificadas como *Actinomyces viscosus* y *Actinomyces maeslundii*, desarrollaron severas infecciones periodontales y caries de la raíz.

Loesche, Hockett y Syed, encontraron que los microorganismos de la placa dentaria que seguían a los *Streptococcus* en prevalencia e importancia numérica eran las especies de *Actinomyces*, demostrando según sus características bioquímicas, que eran cepas de *Actinomyces viscosus* o *Actinomyces odontoliticus*.

La conclusión general que se puede obtener, es que las especies de *Actinomyces* pertenecen al grupo de microorganismos cariogénicos de la placa dentaria, junto a los *Streptococcus* y a los lactobacilos.

Es indudable también, y así ha quedado demostrado que la lesión de caries de la raíz ocurre siempre en presencia de lesiones paradenciales, y esto es comprensible ya que ambas lesiones tienen como agente etiológico fundamental a la placa dentaria.

OTROS FACTORES QUE PUEDEN INFLUIR EN LA CARIES DENTAL

Como ya se ha visto y analizado, para que se produzca caries dental deben coexistir al menos tres factores fundamentales: el microorganismos, el substrato fermentable y el terreno susceptible. Sin embargo, coadyuvando con ellos, existen otros factores que pueden, bajo ciertas circunstancias, influir notablemente en el incremento y agudización del proceso de caries.

Pueden existir múltiples factores coadyuvantes, la mayoría de los cuales no son reconocidos como tales, pero se sabe que tienen cierta importancia y que es conveniente analizar. - Estos son: edad, sexo, raza, localización geográfica, stress y alteraciones hormonales.

EDAD: Es un hecho conocido que durante la niñez y la adolescencia sobreviene una mayor incidencia de caries dental que luego baja notablemente en el adulto joven. Durante la niñez - la mayor incidencia de la caries puede ser explicada por una mayor susceptibilidad dentaria, debido a que las piezas dentarias recién erupcionadas en la boca no completan en ciclo de - maduración del esmalte sino un año después de erupcionadas, exponiéndose al medio bucal en condiciones de inferioridad defensiva debido a la menor dureza del esmalte.

En cuanto a la mayor incidencia de caries dental -

durante la adolescencia, una explicación fácil sería decir que la dieta realiza un papel primordial, sin embargo, sabemos que la adolescencia es un período de rápido crecimiento y producción aumentada de hormonas sexuales, y puede ser que esta actividad realice un papel importante en el problema.

SEXO: Todo clínico sabe de la constante mayor frecuencia de la caries dental en el sexo femenino a través de la vida. Esto se ha atribuido a la dieta, hábitos alimenticios y de vida; sin embargo, no es menos cierto que la mujer sufre grandes cambios en la función endócrina, semejantes a aquéllos que sufren los adolescentes, y esta podría ser una respuesta a estas interrogantes. Sin embargo, no existe investigación adecuada en este aspecto, la cual no permite relacionar la ingerencia que tendría la alteración hormonal con la susceptibilidad a la caries. En la embarazada, la aparición repentina de nuevas caries dentales se debería más bien a una perversión del apetito, por un exagerado gusto por los alimentos dulces y además, por el descuido natural que significa la no preocupación por el control odontológico, generalmente por un período de dos años.

RAZA: Las razas o tipos humanos parecen ser afectados en forma distinta por el problema de caries dental, se sabe por ejemplo, que dos razas que conviven en un mismo ambiente

te y localización geográfica, como la raza blanca y negra en E.E. U.U., que existe una menor prevalencia de caries dental entre la raza negra con respecto a sus compatriotas de raza blanca. Así se comprobó en un extenso trabajo epidemiológico.

Localización geográfica.- Parece tener bastante importancia y esto es comprensible ya que en las aguas de bebidas y en los alimentos, productos agrícolas y leche principalmente, se encuentran las sales minerales, principalmente fluor, lo que produce tejidos dentarios de mejor calidad; si la población vive en una región con suelos ricos en estos minerales, sus piezas dentarias serán mejor constituidas.

Stress.- El stress como factor desencadenante o coadyuvante de la caries dental, parece demostrar a través de una experiencia desarrollada por Honorato et al, que es un factor digno de tomarse en cuenta y capaz de dar luz sobre los múltiples factores que condicionan la etiología de esta compleja enfermedad.

La experiencia a la que nos referimos anteriormente y que fue realizada por Honorato et al, fue la siguiente: a ratones recién nacidos se les separó en dos grupos: uno de control y otro experimental. Al grupo experimental se le dejó mamar un momento y luego se les retiraba, mientras que el grupo de control mataba normalmente.

Cuando estos ratoncitos crecieron, se les dió a ambos grupos una dieta de queso, pero al grupo experimental se le quitaba el alimento, a veces se les alimentaba, a veces no, y entonces en esas condiciones se les colocaba un pedazo de queso sobre la jaula y lejos de su alcance, pero lo suficientemente cerca para que los animales trataran de alcanzarlo.

El grupo de control, mientras tanto, comía normalmente, luego cuando los animales pesaron 75 gms., a ambos grupos se les comenzó a alimentar con dieta cariogénica; al cabo de diez semanas se observaron los efectos de este stress precoz experimental, los animales sometidos al traumatismo psíquico desarrollaron más caries que el grupo de control, lo que demuestra que el stress precoz, al menos en los ratones, es un factor que debe ser tomado en cuenta como poder coadyuvante en la caries dental. No se sabe aún si esto puede ser aplicado al ser humano.

Alteraciones hormonales. - No está bien explicado el mecanismo de acción, pero es un hecho incontrovertido que, personas con hipotiroidismo desarrollan gran cantidad de caries dental. Sin embargo no debe descartarse la alteración generalizada del medio ambiente que rodea al diente en estos pacientes. No existe mayor estudio con respecto a la posibilidad de que otras alteraciones hormonales pudieran influir en la mayor o menor incidencia de caries dental.

M E D I O S D E C U L T I V O

AGAR SANGRE

La base de agar sangre es adecuada para aislar y cultivar diversos tipos de microorganismos que crecen con dificultad, con la adición de sangre, puede usarse para descubrir la actividad hemolítica.

FORMULA EN GRANOS POR LITRO DE AGUA DESTILADA

Infusión de musculo cardiaco _____	375
Peptona clotone _____	10
Cloruro de sodio _____	5
Agar _____	15
Ph final \pm	7.3

PREPARACION:

Se hace una suspensión con 40 gms. de polvo en un litro de agua destilada, se deja reposar durante 5 minutos y se mezcla bien hasta tener una suspensión uniforme, calentar agitando frecuentemente y hervir durante un minuto. Los matraces deben taparse y colocarse directamente en el autoclave, esterilizar a 121°C (15 lbs de presión). Las porciones de 100 mililitros durante 20 minutos, las de 1000 ml. durante 30 minutos. Después de esterilizar, rotar los matraces para asegurar una distribución homogénea, distribuir y esterilizar el medio durante 15 minutos.

SU USO EN PLACAS DE AGAR SANGRE

Al Agar esterilizado, fundido y enfriado a 45°C - 50°C, se añade sangre defibrinada estéril al 5% o 10% y se hace rotar suavemente hasta que la sangre esté uniformemente mezclada con el medio. Evitar agitar para eliminar la incorporación consecuente de burbujas de aire, las muestras pueden verse en cajas petri esterilizadas y después de que haya solidificado, se inocula con la superficie del medio, las cajas pueden prepararse a partir de matraces con medio y sembrando la cantidad que recoja una asa del espécimen o cultivo diluido adecuadamente en el fondo de una caja de petri esterilizada.

En un estudio de viabilidad en condiciones de selección en el campo, SNAVEL Y BRAHIER llevaron a cabo estudios comparativos de sangre de caballo, de conejo y de cordero, con bases de agar sangre y encontraron que en la sangre de conejo, produjo colonias más claras y más confiables, con características de hemólisis tanto a las 24 como a las 48 horas. En el curso de esta investigación se hicieron 1300 aislamientos streptococos, con base de agar que contenían 5% de sangre de cordero, las placas de sangre se preparan estriando el inóculo sobre la superficie de una placa de medio agar endurecido y después vertiendo sobre el mismo unos 10 ml. de mezcla agar sangre.

La base de agar sangre, con 0.1% de glicerol, -- 2.5 de sangre humana de Banco de Sangre y 100 unidades de penicilina por ml. de agua destilada dió resultados comparables con los del medio de Lowenstein Jensen en un estudio efectuado en 7,204 especímenes.

EOSINA Y AZUL DE METILENO (E.M.B.)
FORMULA EN GRAMOS POR LITRO DE AGUA DESTILADA

Extracto de levadura.....	6.00
Peptona polipeptone.....	40.00
Mezcla de sales biliares.....	1.00
Fosfato dipotásico.....	7.00
Cloruro de sodio.....	5.00
Lactosa.....	20.00
Eosina.....	4.00
Azul de metileno.....	1.33
Ph final ±	7.2

PREPARACION:

Se suspenden 84 gms. del medio deshidratado en un litro de agua destilada, se mezcla bien, se calienta y hierva durante un minuto, el medio se puede enfriar y ser empleado en el acto, de lo contrario la preparación se somete y esteriliza en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

El caldo E.M.B. debe emplearse en membranas pre

viamente preparadas, hirbiéndolas suavemente en una solución acuosa de azul de metileno al 0.5% durante 10 minutos y después en agua destilada durante 5 o 10 minutos.

AGAR DE EOSINA Y AZUL DE METILENO
FORMULA EN GRANOS POR LITRO DE AGUA DESTILADA

Peptona.....	10.000
Lactosa.....	5.000
Sacarosa.....	5.000
Fosfato dipotásico.....	2.000
Agar.....	13.500
Eosina.....	0.400
Azul de metileno.....	0.005
Ph final ±	7.2

PREPARACION:

Se suspenden 36 gms. de polvo en un litro de agua destilada, se mezcla hasta que se obtenga uniformidad, se calienta agitando frecuentemente y se hierve durante un minuto aproximadamente, distribuir y esterilizar a no más de 121°C (15 lbs. de presión), durante 15 minutos, enfriar a 45°C y distribuir el medio, agitándolo suavemente antes de usarlo y verterlo en placas

USOS

El agar eosina y azul de metileno, sirve para -

diferenciar las colonias de bacilos entéricos, patógenos de los organismos capaces de fermentar fácilmente la lactosa, la sacarosa o ambas.

Las colonias de salmonellas y shigellas, se diferencian fácilmente de la E. coli por ser de color ámbar, o incoloras a veces, en tanto que las colonias típicas de los bacilos del colon, son azul oscuro con brillo metálico cuando se observan con luz reflejada, otros microorganismos coliformes forman colonias mucoides, conexas de color café; este medio inhibe fuertemente el crecimiento de los organismos gram-positivos, para el aislamiento de los miembros más delicados de los géneros salmonellas y shigellas, especialmente a partir de un espécimen muy contaminado, se recomienda preparar cultivos por duplicado en agar con desoxicolato.

INFUSION DE CEREBRO CORAZON

La infusión de cerebro corazón es un medio líquido para el cultivo de bacterias, está hecho de acuerdo con la fórmula indicada en el National Formulary.

FORMULA EN GRANOS POR LITRO DE AGUA DESTILADA

Infusión de cerebro de ternera.....	200.0
Infusión de corazón de res.....	250.0
Peptona.....	10.0
Cloruro de sodio.....	5.0
Fosfato disódico.....	2.5
Dextrosa.....	2.0
Ph final \pm	7.4

PREPARACION:

Disuelva 37 gms. del material deshidratado en un litro de agua destilada. Para trabajos de cultivo en sangre, se recomienda añadir de 0.5 a 1.0 gms. de agar por litro de medio rehidratado y el medio se hierve durante un minuto, distribuir y esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs. de presión de vapor), durante 15 o 20 minutos. Para obtener mejores resultados, el medio debe usarse el mismo día de su preparación o debe ser hervido o calentado durante unos cuantos minutos y después se deja enfriar antes de usarlo.

USOS

La infusión de cerebro se emplea extensamente para trabajos en sangre y para cultivos de cocos patógenos y de otros microorganismos.

INFUSION DE CEREBRO CORAZON CON PABA Y AGAR

La infusión de cerebro corazón con PABA y AGAR, tiene la misma fórmula que la infusión de cerebro corazón común con la adición de 0.05 gms. de ácido P-amino benzoico con un gramo de agar por litro del medio. La infusión de cerebro corazón con PABA se usa para el examen de sangre de pacientes que han recibido terapia con sulfonamidas. Se ha observado que la inclusión del agar, mejora el desarrollo de los patógenos.

Para lograr una eficiencia máxima, estos medios deben usarse el mismo día de su preparación o hervirse y dejarse enfriar antes de usarlos.

A G A R # 110

El agar # 110, es selectivo para el aislamiento e investigación de estafilococos. Se le ha agregado gelatina y manitol para seleccionar los organismos capaces de atacar estas substancias.

FORMULA EN GRAMOS POR LT.DE AGUA DESTILADA

Extracto de levadura.....	2.5
Peptona tripticase.....	10.0
Gelatina.....	20.0
Lactosa.....	2.0
D-manitol.....	10.0

Cloruro de sodio.....	75.0
Fosfato de potásico.....	5.0
Agar.....	15.0
Ph final \pm	7.0

PREPARACION:

Se suspenden 149 gms. de polvo en un litro de agua destilada. Se mezcla bien, se calienta agitando frecuentemente y se hierve durante un minuto. Distribuir y esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs. de presión), durante 15 minutos.

Se suspende el precipitado, agitando suavemente para evitar la incorporación de burbujas y se distribuye en placas, mientras el medio sigue caliente o se enfría el medio de 45°C a 50°C y se agrega la sangre si se desea.

El agar para estafilococos # 110 también puede emplearse sin esterilizar, hirviéndolo durante 5 minutos y usándolo inmediatamente.

USOS

Se estufa o frota con el inóculo y se incuba durante 48 horas a 30°C, luego se seleccionan las colonias pigmentadas para hacer tensiones y reacciones de coagulación, así como pruebas de hemólisis si así se desea, si en las áreas que dejan las colonias al ser seleccionadas

agregamos unas gotas de azul de bromotil, podemos apreciar la fermentación de manitol, finalmente, las placas se pueden cubrir con 5 ml. de una solución acuosa saturada de sulfato de amonio, e incubarlas durante 10 minutos para apreciar la hidrólisis de la gelatina observando las zonas claras.

También se puede seguir el método de Chapman, con tubos de ensayos para ver en las placas la fermentación lisis de la gelatina y reducción (mediante el cloruro de trifenil tetrazolico).

Shaffer y Macdada, enriquecieron el agar para estafilococos # 110, agregándole 5% de sangre humana citratada en un estudio de S Aureus llevadas por el viento, el medio de sangre demostró ser un indicador muy confiable para streptococo aureus, debido a la información de colonias pigmentadas de amarillo - dorado con zonas de Beta Hemólisis. Como indicador de estafilococos coagulosa positivos, Carter le agregó una yema de huevo pura, suspendida en 100 ml. de infusión esterilizada de cemento co razón a 900 ml. de agar para estafilococos # 110 esterilizado y enfriado, inmediatamente antes de verterlo en las placas, las colonias con reacción positivas y un área de precipitación en 48 hs. se consideraron como cuagulosa positivas también.

CALDO DE SOYA TRIPICASEINA PARA
CULTIVO DE BACTERIAS EXIGENTES

Es un medio altamente nutritivo y muy versátil, -
recomendado para uso general en el laboratorio; debido a
que en su fórmula existen dos peptonas, el medio dará -
abundante crecimiento de varios microorganismos exigentes
y difíciles sin la necesidad de añadir suero u otros mate-
riales.

FORMULA APROXIMADA EN GRAMOS POR LITRO
DE AGUA DESTILADA

PEPTONA DE CASEINA.....	17.0
PEPTONA DE SOYA.....	3.0
CLORURO DE SODIO.....	5.0
FOSFATO DIPOTASICO.....	2.5
DEXTROSA.....	2.5
Ph final 7.3 ± 0.2	

PREPARACION:

Se suspenden 30 gms. de polvo en un litro de agua
destilada, se mezcla bien, se calienta ligeramente hasta
lograr la solución. Distribuir y esterilizar a 121°C (15
lbs. de presión) durante 15 minutos.

USOS:

El caldo de soya tripticaseína se ha empleado comúnmente en muchos procedimientos de diagnósticos e investigación. Por ejemplo, se usa para el aislamiento y pruebas de sensibilidad de especies patógenas delicadas y no delicadas, en la preparación de inóculos, producción de antígenos para pruebas de aglutinación y pruebas serológicas.

Con la adición de sangre, el medio se vuelve aún más rico, por lo cual se puede cultivar una mayor variedad de microorganismos.

Catálogo de medios de cultivo # 1 de BIODON

GASPAK

Gaspak es un generador que desarrolla bióxido de carbono y oxígeno y produce atmósfera anaerobia en un 10 por ciento.

COMPOSICION

Hidrógeno mas bióxido de carbono generador
Una pieza de papel filtro
Una tableta de borohidrato de sodio
Acido cítrico
Una tableta de bicarbonato de sodio

Para hacer reaccionar este producto se le agregan 10 ml. de agua destilada.

BIBLIO. CATALOGO bb1-70304

DESARROLLO DEL EXPERIMENTO

Se inició con la preparación del medio cultivo, el cual se preparó con una solución de caldo de Soya Tripcaseína enriquecida con sacarosa al 10%, una vez preparado se vertió en tubos de ensayo, los que se colocaron en la autoclave para su esterilización a una temperatura de 121°C y 15 lbs. de presión.

Una vez esterilizado y enfriado el medio, se procedió a tomar la muestra de placa dentobacteriana de niños menores de 7 años, considerando que en éstos es más factible encontrar desarrollo de *Streptococcus mutans*.

Para tomar dicha muestra se utilizó una asa redonda y un mechero, se colocó al paciente frente a éste, se tomó el asa y se llevó hacia el mechero hasta ponerlo al rojo vivo para esterilizarlo, se enfrió en un recipiente con agua destilada estéril, de inmediato se procedió a tomar la muestra en los cuellos de los dientes que presentaban mayor cúmulo de placa y enseguida se llevó a cabo la siembra del producto en los tubos ya mencionados, colocándose una muestra en cada uno.

Una vez realizado esto, se pusieron en una caja de anaerobiosis con un sobre de Gaspak, el cual sirve

para proporcionar un ambiente anaeróbico debido a sus propiedades químicas, y cerrando perfectamente la caja se metió en el cuarto estufa durante un período de 48 horas, - después de transcurrido este tiempo se observó en los tubos un gran desarrollo de microorganismos los que se resembraron en cajas de Petri con gelosa sangre y gelosa chocolate, utilizando la técnica de aislamiento por estrías, la cual consiste en colocar en una orilla de la caja unas - muestras pequeñas del producto obtenido de los tubos y estriar en forma cerrada hasta una estría abierta para evitar que éstas se encimen y las bacterias puedan desarrollarse en forma adecuada, estas cajas fueron incubadas también en anaerobiosis en una estufa.

Transcurrido el tiempo de incubación se les practicaron a las cajas una serie de frotis con tinción de Gram, en las cuales se observó presencia de microorganismos como Neisserias, Staphylococcus, bacilos, Gram positivos y --- Streptococcus. En las cajas en donde se notó desarrollo de Streptococcus se procedió a aislar e identificar las colonias con ayuda de una lámpara y se resembraron en tubos de ensayo conteniendo Soya Tripticasea con 10% de sacarosa, Incubándolos en anaerobiosis de la misma forma que las anteriores.

Se sacó la caja de la estufa y de nuevo se hicieron frotis para verificar las colonias puras de Streptococcus, - las que se sometieron a pruebas metabólicas de manitol y spr-bitol incubándolas en anaerobiosis con la finalidad de observar la fermentación de los mismos, los cuales resultaron positivos al virre del indicador, del color rojo original al - amarillo. Esta prueba nos demostró que ya teníamos aislado - el Streptococcus mutans, ya que éste es el único capaz de virar dichos azúcares.

El siguiente paso consistió en purificar todavía - más la cepa del Streptococcus mutans a través de resiembra - en Soya con Sacarosa al 10%, para proceder posteriormente al paso final del experimento que consistió en la obtención de dextranas a partir de unos tubos de ensayo que fueron preparados con unos dientes, los que se encontraban fijados por - su spice al extremo de un clip del cual, al otro extremo, se insertó en un corcho que serviría como tapón de los tubos, - los cuales contenían el sustrato preparado a partir de caldo de Soya Tripticaseína con diferentes concentraciones de Sacarosa (30, 25, y 15%) los que para diferenciarlos se les pusieron las letras A, B, y C, respectivamente; una vez preparados los tubos se esterilizaron en el autoclave y después - de enfriarlos se sembraron en ellos ante un mechero las colonias de Streptococcus mutans ya purificadas y se procedió a

incubarlas en anaerobiosis y en cuarto estufa durante 72 horas, el tiempo que fue necesario para observar la formación de dextranas, las que se hallaban adheridas a los dientes puestos en los tubos.

Posteriormente se procedió a identificar las dextranas usando una gota de dextranasa que es una enzima que tiene la facultad de hidrolizar las dextranas, dicha enzima fue probada a su vez con otra sustancia llamada Saphade, que son dextranas puras las que al microscopio se ven como bolitas de cristal que al reaccionar con la dextranasa da la impresión de que se empiezan a quebrar hasta desaparecer en el porta-objeto, en un tiempo aproximado de 5 a 10 min. probando con ello la eficacia de la enzima. Se procedió en seguida a identificar las dextranas formadas en los dientes para lo que se sacaron los tubos de la caja de anaerobiosis en que se encontraban, de los cuales el marcado con la letra "A", debido a su mayor concentración de Sacarosa, mostraba una formación de dextranas superior a la de los tubos "B" y "C" de los que el tubo "C" casi no enseñaba adherencia en el diente debido a la poca concentración del sustrato, inhibiendo la formación de dextranas y en el tubo "B" se vió un desarrollo regular de dextranas formando una placa color blanco. A los tres tubos se les practicó la prue-

ba enzimática de la dextranasa, destapando el tubo ante un mechero y tomando el contenido de una asa, se puso sobre el porta-objeto, encontrando al microscopio unas dextranas en forma de esferitas de cristal iguales al Sephadex, se les aplicó la dextranasa y a los 10 min. comenzaron a desintegrarse hasta desaparecer, como ocurrió en la ocasión anterior, llegando así exitosamente al objetivo de nuestro trabajo.

CONCLUSIONES

Las principales conclusiones a las que hemos llegado, después de nuestro trabajo, son sin lugar a duda, que la formación de caries se debe principalmente a la acción enzimática del Streptococcus mutans, que tiene la capacidad de fermentar los azúcares ingeridos en la dieta, para formar las dextranas que es el primer paso para que se desencadene el fenómeno de la caries, lo cual ha sido probado a través de la tesis.

La acción cariogénica del Streptococcus mutans, desencadena la formación de las dextranas de la siguiente manera:

Al reunirse en la boca los tres elementos que se citan en la tríada de Keyes y que son el diente, el sustrato y el Streptococcus mutans.

Conjugando estos factores se producen las dextranas, para lo cual, el primer paso consiste en que el Streptococcus mutans produce una enzima llamada dextranasa o glucosiltransferasa, la que a su vez actúa sobre las moléculas de sacarosa que es un disacárido, para desdoblarlo en dos monosacáridos que son por un lado dextrosa y por el otro la fructuosa.

Las moléculas de dextrosa se unen entre sí en los "carbonos uno seis", para formar un polisacárido conocido como dextrana, este polímero se adhiere fuertemente a las paredes expuestas del diente y se implanta en las partes más accidentadas de las caras coronarias y en las fijas y fijas de las caras oclusales, así como en los cuellos de los dientes en la unión cemento esmalte, empezando así a romper las superficies del diente como proceso cariogénico.

Creemos que es de vital importancia para la Odontología que a nivel de Seminarios o por alguna difusión, se siga fomentando la investigación al respecto del fenómeno caries, para lo cual proponemos ciertos caminos que deberían ser investigados con mayor profundidad, para lograr una eficaz prevención y control de esta enfermedad.

Como líneas de investigación sugerimos:

- a) Investigación de las enzimas sacarolíticas, - que intervienen en la degradación o hidrólisis de la sacarosa y que son producidas por los - gérmenes cariogénicos.
- b) Bacteriófagos contra microorganismos cariogénicos.
- c) Intercambio iónico del esmalte dentario.
- d) Efectos hormonales sobre la incidencia de caries dental.

B I B L I O G R A F I A

BREED S., Robert. - MURRAY, D.E.G. - SMITH R.
Nathan Bergoy's

Manual of Determinative Bacteriology, the
Williams and Wilkins, Company.

CAPELLO BUSTOS, Antonio

Microbiología de Zinsser.
Traducción al Español.
Unión Topográfica.
Editorial Hispano Americana

DR. WILLIAM A. NOLTE

Microbiología Odontológica
Editorial Interamericana

DR. ALEJANDRO DIVO

Microbiología Médica
Editorial Interamericana
2a. Ed.

DAVIS, DOLBECO, EISEN, GINSBERG, WOOD

Tratado de Microbiología
Editorial Salvat

FROBISHER, FUERT

Microbiología
Editorial Interamericana
13a. Ed.

FINN, B.- NALE, L.M.- HASEN, P.S.- MAYERS, S.R.
ROBINSON, B.G.H.- SIULERMAN, I.S.

The year book of dentistry, year book
medical publishers, inc.

CONN E., Eric y P.K. STUMPF

Bioquímica Fundamental
Editorial Limusa
2a. Ed.

DUBOS J. René.- HIRSEH G., James

Bacterial and Mycotic Infections of man
Job. Lippincott Company
4a. Ed.

HUERTA MIRANDA, Jorge.- HERNANDEZ H. Agustín.-
MARTINEZ DE PINILLO VALERDI, Marina

Principios de Microbiología bucal
Ed. de la Universidad de Chile
1975

OLAS, J. R.

Atlas de Microbiología
Editorial Científico Médica

STEPHENSON, William

Introducción a la Bioquímica
Editorial Limusa

WANNA, MAKER, W.L.

Matsem M. John, Streptococci and
Streptocuccal
Dísases Academic Spress
New York and London