



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

MICROFLORA BUCAL EN HUMANO.
COMPARACION DE LA MISMA CON ANIMALES
DE LABORATORIO Y SU CONTRIBUCION A LA
MICROBIOLOGIA BUCAL.

T E S I S

Que para obtener el título de:

CIRUJANO DENTISTA

p r e s e n t a :

DULCE MARIA LARA RUIZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

123
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA



MICROFLORA BUCAL EN HUMANO.
COMPARACION DE LA MISMA CON ANIMALES
DE LABORATORIO Y SU CONTRIBUCION A LA
MICROBIOLOGIA BUCAL.

T E S I S

Que para obtener el título de:
CIRUJANO DENTISTA
p r e s e n t a :
DULCE MARIA LARA RUIZ

A MIS PADRES:

SR. LUIS LARA RODRIGUEZ
SRA. MARIA AMOR RUIZ DE LARA

CON RESPETO, CARIÑO Y AGREDE-
CIMIENTO POR LA CONFIANZA QUE
SIEMPRE ME HAN BRINDADO Y POR
SU ESFUERZO DE HACER DE MI, -
ALGUIEN UTIL Y REALIZAR ASI -
UNA ETAPA DE SUPERACION EN MI
VIDA.

AL DR.

LUIS REY PALAFOX Y PEREZ DE
SALAZAR

POR SU ASESORIA EN LA ELABORACION
DE ESTA TESIS Y POR SUS CONSEJOS -
PROFESIONALES.

A SERGIO

CON CARIÑO, POR EL SENTI-
MIENTO QUE NOS UNE, Y -
POR EL APOYO QUE SIEMPRE
ME HA BRINDADO.

TEMA: MICROFLORA BUCAL EN HUMANO
COMPARACION DE LA MISMA CON ANIMALES
DE LABORATORIO Y SU CONTRIBUCION A LA
MICROBIOLOGIA BUCAL.

INDICE
DEDICATORIAS
PROLOGO

TEMA I. - MICROFLORA BUCAL EN HUMANO.

- a). - Historia de los métodos de cultivo.
- b). - Métodos de análisis en flora bacteriana.
- c). - Flora bacteriana
- d). - Grupos específicos de la microflora bucal, y generalidades de patogenia.

TEMA II. - SALIVA EN HUMANO.

- a). - Constituyentes inorgánicos de la saliva
- b). - Constituyentes orgánicos
- c). - Aminoácidos
- d). - Vitaminas
- e). - Enzimas
- f). - Bacterias.

TEMA III. - PLACA BACTERIANA

- a). - Alteraciones de la microflora durante la formación de la placa.
- b). - Factores que favorecen los niveles bajos de pH en la placa.
- c). - pH en la placa y su relación en la actividad de caries

- d). - Factores bacterianos que regulan la forma y el pH mínimo de la curva de Stephan.
- e). - Desintegración por las bacterias e invasión de los tejidos dentales duros.
- f). - Localización del ácido y descenso del pH en la placa dental.
- g). - Microorganismos del proceso de caries.

TEMA IV. - COMPARACION DE LA MICROFLORA BU- CAL EN HUMANO CON ANIMALES DE LA- BORATORIO.

- a). - Tablas comparativas
- b). - Bacterias del proceso de caries en animales
- c). - Saliva en animales
- d). - Diferencia de enfermedad parodontal en humano y en animales.
- e). - Sarro dental en humano y en animales

TEMA V. - CONTRIBUCION DE LOS ANIMALES DE LA- BORATORIO A LA MICROBIOLOGIA BUCAL.

- a). - Acción del fluoruro
- b). - Agentes anticariogénicos sin fluoruros
- c). - Origen microbiano de la caries dental

TEMA VI. - CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA.

TEMA I. - a). - Historia de los métodos de cultivo.

Medios de cultivo. - Son las sustancias ó materiales en que se desarrollan los microorganismos.

Cultivo. - Es el crecimiento bacteriano.

Los medios naturales son los que se preparen con productos que brinda la naturaleza como la leche, clara de huevo, trozos de patata y carne.

Para su estudio los medios de cultivo se clasifican en dos grupos; los medios de cultivo líquidos y los sólidos.

MEDIOS LIQUIDOS.

En su mayoría el tipo de este medio suelen clasificarse como CALDOS aunque solamente se trate de soluciones de sales minerales, ya que los primeros utilizados en bacteriología fueron elaborados con caldo de res. El CALDO NUTRITIVO es el medio líquido más utilizado en la actualidad, se prepara disolviendo 5 gr. de PEPTONA y 3 gr. de EXTRACTO de carne ó levadura, en un litro de agua destilada.

La Peptona es un producto hidrosoluble que se prepara por digestión enzimática parcial de una proteína como soya, caseína ó carne magra. Se han obtenidos múltiples variedades de peptona por simple variación de la proteína, enzima proteolítica (pepsina, tripsina ó papaina), en condiciones y tiempo utilizado para la digestión.

Diversas peptonas se han convertido en productos altamente estandarizados y se usa en forma sistemática para obtener variedades especiales en los medios de cultivo.

En general las peptonas brindan la mayor parte de los materiales nitrogenados que necesitan las bacterias para la síntesis de la substancia celular, al mismo tiempo pueden servir como fuente de energía para el crecimiento bacteriano.

El extracto de carne es la porción hidro-soluble de la misma, concentrada hasta el punto de pasta.

El extracto de levadura es la porción hidrosoluble de levadura autolizada. Ambas proporcionan sales y gran variedad de material para el crecimiento de las bacterias.

El uso de éstos productos ha simplificado la preparación de medios de cultivo, pero no han substituido por completo a las infusiones preparadas con carne fresca, higado, cerebro y vegetales. Con frecuencia se modifica el CALDO NUTRITIVO y las infusiones por adición de hidratos de carbono, indicadores de pH y otros productos utilizados para propiciar el crecimiento de las bacterias, con requisitos especiales ó para demostrar una reacción fisiológica útil en taxonomía.

La leche descremada fué uno de los primeros medios líquidos usados para el cultivo de bacterias, todavía se usa en la clasificación bacteriana, aunque casi siempre modificada por adición de un indicador de pH, como tornasol ó púrpura de bromocresol.

MEDIOS SOLIDOS.

Al principio se prepararon por esterilización de vegetales ó trozos de pan. Todavía se usan algunas veces estos materiales en bacteriología pero en general han sido substituidos por medios líquidos modificados por la adición de agentes susceptibles de solidificación como el agar, ciertas proteínas ó gel de sílice.

Es una gran ventaja disponer de un medio sólido que puede licuarse por calentamiento y recuperar el estado sólido al enfriarse.

El primer material que se añadió al caldo para conferirle ésta propiedad fué la gelatina.

KOCH descubrió que la gelatina del 2.5 al 5 % se usaba como medio de cultivo líquido y que se tornaba sólido al someterlo a temperaturas inferiores a 23°C, sin embargo este medio no podía incubarse a la temperatura del cuerpo sin convertirse en líquido; además la gelatina con frecuencia era destruida por las bacterias proteolíticas, dando lugar a un medio que no gelificaba ni aún a baja temperatura.

El uso de AGAR para solidificar medios de cultivo se atribuye a una sugerencia de FRAU HESSE, esposa de uno de los colaboradores de KOCH, quien habiendo observado las dificultades planteadas por las bacterias que digieren la gelatina, convirtiendo su medio sólido en líquido.

La primera referencia del AGAR como medio de cultivo fué hecha por KOCH. En un trabajo publicado en 1882, este polisacarido complejo derivado de algas marinas, antes de ser utilizado en bacteriología se em-

pleaba en culinaria como agente para aumentar la densidad de ciertos preparados. La adición de 12 a 15 gr. - de agar a un litro de medio de cultivo líquido producirá un gel que funde a 95°C , pero que solidifica enfriándose, a menos de 45°C , así que se puede sembrar bacterias - en un medio de agar fundido a un grado de temperatura que no cause su muerte durante breve exposición, y una vez solidificado el medio por enfriamiento ulterior, puede incubarse a temperaturas tan altas como 60 a 70°C - sin fundirse de nuevo.

Por otra parte, el agar no se descompone rápidamente por acción de las bacterias, comunmente encontradas en los laboratorios de bacteriología. El agar posee casi todas las propiedades que un bacteriólogo - necesitaría para elaborar un medio gelificante para uso especial. Los medios que contienen 15 gr. de agar por litro son suficientemente sólidos para impedir el movimiento de la mayoría de las bacterias a través del gel. En los que existen cantidades más pequeñas de agar -- (3 a 5 gr./lt.)

La consistencia es semisólida, lo que permite el movimiento de las bacterias móviles, al mismo tiempo que restringe la diseminación de las inmóviles por corrientes de convección.

Con frecuencia se usan estos medios para determinar la movilidad de las bacterias. Puede lograrse la solidificación de un medio de cultivo con un material inorgánico por formación de un gel de ácido silícico. - Rara vez se utilizan tales medios en bacteriología porque se necesita mucho tiempo para preparar el gel y - dializarlo con el objeto de eliminar sales no deseables - derivadas del propio método de preparación.

La elaboración de un gel ácido silícico no es un proceso reversible por el calor.

Además de la gelatina ya mencionada se han usado otras proteínas como; albumina de huevo y suero sanguíneo para solidificar medios, estos productos pueden coagularse por medio del calor dando lugar así a medios sólidos, una vez solidificados deben usarse así, pues es como la gelatina tiene el inconveniente de convertirse en líquido por la acción de las bacterias proteolíticas.

DEFINICION DE pH Y ESCALA DE pH.

Como la mayor parte de las bacterias posee gran sensibilidad a los cambios de la acidez ó alcalinidad del medio en que viven; es necesario hacer ajuste del pH ó sea del grado de acidez ó alcalinidad del medio en el cual deben crecer los microorganismos.

Se dice que una solución es ácida cuando tiene un exceso de iones hidrógeno cargados positivamente (H^+) y, alcalinidad cuando tiene exceso en número de iones hidroxilo con carga negativa (OH^-).

El agua pura se considera neutra, ya que por ionización superficial a $22^\circ C$ es igual al número de hidrogeniones que el de iones hidroxilo liberados, ó sea $HOH \rightleftharpoons H^+ + OH^-$.

Cuando se ioniza un ácido fuerte como el clorhídrico, se eliminan iones H^+ , es decir $HCl \rightleftharpoons H^+ + Cl^-$; mientras que una base fuerte como el hidróxido de sodio libera iones OH^- , esto es, $NaOH \rightleftharpoons Na + OH^-$. Debido a la ligera ionización del agua, un ácido contendrá siempre algunos iones hidroxilo, una base y algunos

hidrogeniones, pero en ambos casos, serán muy bajas - las concentraciones relativas de estos iones. Por lo -- tanto, puede saberse la acidez y alcalinidad de una solu- ción en términos de iones de hidrógeno, utilizando las -- escalas del pH. Cuando se ioniza el agua destilada pu- ra a 22°C, existen 0,000 000 1 gr. de iones de hidró- geno por litro se representa gráficamente como 10 g/lit. para cada ion hidrógeno hay el ion hidroxilo, correspon- diente así la solución es neutra. Como en el caso del agua pura es igual al número de iones H^+ + y OH , ca- da uno de ellos debe tener una concentración de 1×10 , siendo igual el producto de ambos iones a 1×10 . Ba- sándose en estos principios se ha elaborado una escala- de pH del 1 al 14 habiéndose definido el pH como el -- logaritmo inverso de las concentraciones de hidrogenio- nes. $pH = \log. \frac{1}{[H^+]}$ 0 - log (H^+) por lo tanto una solu-

ción abundante en iones hidrógeno tendrá un pH de 7, - indicando una reacción ácida, mientras que pocos iones hidrógeno será reacción alcalina expresada por un pH - mayor de 7.

MEDICION DEL pH

Puede determinarse colorimetricamente el pH de medios y soluciones valiéndose de pruebas con papel ó de soluciones químicas indicadoras cuando se usa --- ésta última se agregan al medio varias gotas de indica- dor y el color que se produce por la actividad de los - iones hidrógeno se compara con un conocido estándar.

Hay varios tipos de bloques comparadores en los trabajos preliminares en bacteriología. Ejemplos - de indicadores que se usan;

INDICADOR	pH	Cambios de Color.
Púrpura de bromocresol	5.2 - 6.8	amarillo a púrpura
azul de bromotimol	6.0 - 7.6	amarillo a azul
rojo fenol	6.8 - 8.4	amarillo a rojo

Otro método más exacto para determinar el pH es el uso del medidor que nos da determinaciones electrométricas del mismo.

Este método requiere de un equipo costoso, que se estandariza mediante el uso de soluciones de pH conocido, que se emplean después para medir la actividad de los iones hidrógeno del material sometido a investigación.

Con estos métodos se ha determinado el pH de muchos medios bacteriológicos y de otra variedad de sustancias. Ejemplos de alimentos cuyo pH oscila desde grados elevados de acidez a reacción neutra.

Limonas	2.5	Espinacas	5.4
manzanas	3.4	leche	6.6
tomates	4.3	camarones	7.0

Refiriéndose a las bacterias, todas tienen un límite óptimo en el que se desarrollan mejor su crecimiento y funciones. Para algunas su punto ideal es cerca de la neutralidad ó en pH entre 6 y 8, otras pueden vivir, ó incluso necesitar ambientes tan ácidos como pH de 3 ó inferiores, mientras que otras prefieren pH alcalino de 8 ó más. Una fase importante de la fisiología bacteriana es la determinación del pH óptimo, mínimo y máximo de los microorganismos sujetos a investigación.

MEDIOS ESPECIALIZADOS. En los laboratorios modernos para lograr el crecimiento de muchas bacterias en cultivos puros, se emplean los medios de cultivo enriquecidos con; extracto de levadura, jugo de tomate, suero sanguíneo, ó eritrocitos estériles. Estos dos últimos se alteran por el calor y deben agregarse asépticamente a un medio a base de agar que haya sido fundido y enfriado abajo de 50°C. Por otra parte las bacterias autotróficas y muchas especies saprófitas, pueden crecer en medios de cultivo de composición química (medios sintéticos). Los medios de este tipo utilizados para propiciar el desarrollo de bacterias autotróficas son simples soluciones de una mezcla de sales inorgánicas, mientras los que se usan para cultivo de bacterias saprófitas pueden variar en su composición, desde una mezcla de dichas sales más un hidrato de carbono, a una mezcla compleja de sales, carbohidratos, aminoácidos, vitaminas, purinas y primidinas.

Los progresos de la fisiología de las bacterias, y el hecho de contar con aminoácidos y factores de crecimiento, han posibilitado el cultivo de muchas bacterias sobre medios sintéticos, que en otros tiempos sólo podían desarrollarse en medios compuestos de sangre ó leche.

Los medios sintéticos son útiles para el estudio nutricional de las bacterias y en algunos ensayos biológicos para vitaminas y aminoácidos. Asimismo, pueden tener valor diferencial entre dos gérmenes morfológicamente similares. Así, podemos observar que *AEROBACTER AEGENES* crece en caldo de citrato de Koser, que proporciona ácido cítrico y fosfato amónico de sodio respectivamente como fuentes de energía y de nitrógeno; mientras que *ESCHERICHIA COLI* no desarrollará sobre este medio a menos que se le brinde riboflavina.

MEDIOS DESHIDRATADOS. - En un tiempo se consideraba como poco práctico preparar cada uno de los medios de cultivo con los ingredientes básicos, lo cual ha sido reemplazada por el uso de medios de cultivo deshidratados a los cuales sólo se necesita añadir agua destilada. Estos medios son generalmente estables y bien estandarizados con respecto a concentración de materiales y pH. y son muy útiles para la preparación de pequeñas cantidades de medios complejos.

Para muchos laboratorios resulta económico adquirir sus medios de cultivo preparados, esterilizados y sellados en tubos ó sembrados por el método de derrame en placas de petri desechables. En laboratorios clínicos pequeños son muy útiles para la investigación de características fisiológicas de las bacterias, pequeñas tablas de medios de cultivo o discos de papel impregnado que se colocan en un tubo de agua estéril ó sobre la superficie de un medio basal de agar.

ESTERILIZACION DE MEDIOS DE CULTIVO, UTENCILIOS DE VIDRIO ETC.

Los medios de cultivo deben esterilizarse lo antes posible, una vez preparados, pues de otro modo se producirá multiplicación rápida de gérmenes contaminantes, alterándose en consecuencia su composición. Los tubos, botellas ó frascos suelen taparse con algodón, espoja plástica, caperuza metálica deslizable ó provista de tornillo, para evitar la contaminación una vez esterilizados.

METODOS PARA ESTERILIZACION DE MEDIOS DE CULTIVO.

A partir de los trabajos de Spallanzani duran-

te la controversia sobre la generación espontánea, se acostumbró durante un tiempo a esterilizar los medios por calentamiento "al punto de ebullición" durante varias horas. Todavía se utiliza este método para la preparación de conservas caseras pero, rara vez en bacteriología, por lo incierto de los resultados y el mucho tiempo que requiere. Fué substituido por el método de calentamiento discontinuo ó intermitente denominado TINDALIZACION. Este proceso fué ideado por el físico inglés Tyndall (1877) durante sus experimentos para combatir la teoría de la generación espontánea.

Una vez colocado en tubos se calentaba el medio hasta el punto de ebullición durante unos cuantos minutos. De esta menra se destruían las células vegetativas, pero no las esporas. Se conservaba el medio en reposo hasta el día siguiente, en cuyo tiempo germinaban las esporas y producían células vegetativas, destruyéndolas de nuevo por calentamiento similar.

Como algunas esporas germinaban lentamente, se producía un tercer calentamiento al día siguiente. Aunque este método era muy lento y no siempre satisfactorio, debido a la germinación tardía de esporas y a los cambios causados por el desarrollo bacteriano entre los calentamientos, se usó durante muchos años, y todavía se utiliza hoy con algunos medios que se descomponen fácilmente por calentamiento excesivo.

En general, los períodos de 8 horas entre los calentamientos dan mejores resultados que los intervalos de un día.

Este método está hecho para la germinación de esporas y, por lo tanto solamente puede usarse con éxito con soluciones nutritivas que propicien el desarro-

llo bacteriano. No es aconsejable para el agua esterilizada y algunas soluciones.

El tercer método que prácticamente ha substituido a los otros dos es el AUTOCLAVE ó ESTERILIZADOR DE VAPOR A PRESION. Se coloca el medio en el autoclave, y después se cierra hermeticamente la puerta, se permite el paso del vapor a presión. Es preciso desplazar todo el aire, pues de otro modo, la presión en el autoclave no será debida a la presencia del vapor. Con la mezcla de aire y vapor, la temperatura es más baja que la correspondiente al vapor puro a la misma presión. En consecuencia, y con el objeto de obtener calor suficiente para destruir todas las células vegetativas y esporas, es importante eliminar todo el aire de la cámara al iniciar el período de esterilización. Se tiene cuidado en los esterilizadores modernos a presión en los que tiene un termómetro en el orificio de la salida indicando la temperatura en la parte más fría de la cámara.

La única función de la presión desarrollada es aumentar la temperatura a un grado que asegure la destrucción de las esporas bacterianas. La presión más usada es la de 15 lb/plg². de exceso sobre la presión atmosférica. Lo cual da una temperatura de 121°C (250°F) A nivel del mar, esta temperatura suele mantenerse durante 15 ó 20 min. aunque el tiempo necesario para la esterilización puede ser variable, ya sea por carga excesiva del autoclave ó por el uso de grandes recipientes cuyo contenido se calienta muy lentamente. Al final de la esterilización se cierran las válvulas de descarga ó salida y la de vapor dejando que el autoclave se enfríe lentamente. De esta manera se impide la ebullición violenta en el interior de los tubos y frascos que humedecerá los taponés de algodón ó los lanzará con fuerza del tubo.

Algunos de los ingredientes utilizados en los medios de cultivo, especialmente factores de crecimiento, gelatina y algunos azúcares, son gradualmente descompuestos en el autoclave por la acción de calor; si se usa este método de esterilización, el medio que los contiene debe calentarse por breves períodos, los más cortos posibles para la esterilización, y enfriando inmediatamente que se saca del autoclave.

La filtración es un método muy usado para esterilizar soluciones que pueden descomponerse ó alterarse por el calor excesivo. Se dispone para este objeto de varios filtros serológicos y bacteriológicos, como los de Berkefeld y Mandler, fabricados con tierra de diatomeas, los de Chamberland y Selas, de porcelana deslustrada, y los de cristal elaborados con polvo de vidrio fundido, los hay de varios tamaños y grados de porocidad. La eficacia de estos filtros se refiere a la eliminación de las bacterias de las soluciones dependiendo del volumen de los poros, la carga del filtro, el tipo de solución al filtrar, así como de la presión y tiempo empleado.

Naturalmente que no sirven para retener virus ó formas filtrables de bacterias. Antes de usarlos deben prepararse por lavado incineración ó introducción en autoclave.

Otro tipo de filtro es el de Seitz, utiliza almohadillas de papel especiales, vertidas en recipientes de metal en los que se someten a la acción del autoclave antes de uso. Estas almohadillas se deshechan después del filtrado.

El filtrado Millipore consiste en una membrana delgada de un derivado de celulosa, provista de ori-

ficios uniformes de diámetro inferior al de las bacterias, se usa mucho en bacteriología como en esterilización de agua y sueros sanguíneos.

ESTERILIZACION QUIMICA. - Algunos medios de cultivo y gran variedad de otros materiales, pueden esterilizarse por medios químicos. Cuando se trata de ciertos artículos pueden ser sumergidos en una solución química ó exponerlos a vapores de formol.

Otros materiales como apósitos, instrumentos etc, pueden esterilizarse en cámara con óxido de etileno ó vapor de betapropiolactona. Estos gases deben manipularse con equipo especial para evitar riesgos de toxicidad y explosiones al personal que lo usa.

ESTERILIZACION DEL MATERIAL DE VIDRIO
Puede utilizarse el autoclave para este objeto, pero en general no se recomienda, ya que el vidrio queda húmedo. Con más frecuencia los tubos, frascos, placas de petri etc. se esterilizan en hornos de aire caliente recorriendo a un procedimiento similar al de Lister en 1878. La temperatura requerida dependerá del tiempo durante el cual se aplique el calor.

Generalmente se usan temperaturas de 170°C ó más, durante una ó dos horas. Las temperaturas de 180°C carbonizan el papel ó el algodón. Algunos tipos de esterilizadores secos se calientan con electricidad; otros con gas. El calentamiento uniforme del contenido depende de la carga apropiada del horno.

INOCULACION DE MEDIOS DE CULTIVO. La transferencia de bacterias de cultivos de depósito, ó de otros materiales que las contenga, a medios de cultivo estériles, requiere técnica adecuada y manipulación cuidadosa.

Debe suponerse que todas las superficies externas; mesa de trabajo manos, instrumentos, y exterior de tubos y frascos con medios estériles, están contaminados con bacterias y esporas de mohos. Muchos microorganismos pueden ser trasladados por las partículas suspendidas en el aire sobre todo si hay corrientes.

El problema está en transferir la bacteria deseada al medio de cultivo estéril, sin introducir otras extrañas procedentes de la fuente de contaminación.

PREPARACION DEL LOCAL. La transferencia debe llevarse a cabo en habitación para cultivos limpia, pequeña y sin corrientes de aire. Para contrarrestar las partículas de polvo suspendidas en el aire, se trabaja sobre un paño húmedo extendido sobre la mesa, ó en una área limpiada con desinfectante, para que las partículas se adhieran a las zonas húmedas. En los laboratorios se ejecutan trabajos muy delicados como preparación de sueros, vacunas etc. por lo tanto disponen de aire filtrado que a veces se trata con rayos ultravioleta, germicidas, para mantener atmósfera estéril.

TRANSFERENCIA CON AGUJA DE INOCULACION. Cuando no importe la cantidad exacta de inóculo que debe transferirse, el método más fácil es el uso de aguja de inoculación, la cual puede ser recta, ó curvada en uno de sus extremos formando una asa de 1 a 3 mm. ó más de diámetro. Cuando la cantidad a inocular es muy grande pueden hacerse varias asas en un sólo hilo metálico.

Al hacer la transferencia de tubo a tubo por este método, se calienta la aguja en la llama al rojo sombra, antes y después de usarla, teniendo también

la precaución de pasar rápidamente por la llama con objeto de quemar el polvo adherido, y toda la porción de mango que se haya introducido en el tubo.

TRANSFERENCIA CON PIPETA. En trabajos cuantitativos se utiliza para las transferencias pipeta graduada estéril. Por ejemplo, si se necesita saber el número de bacterias en agua ó leche, se transfiere con la pipeta 1.0 ml de la muestra a una botella de 99 ml. de agua estéril con objeto de efectuar dilución. Si se considera de antemano que el número de bacterias será muy elevado se harán diluciones posteriores en forma similar. Después se transferirá 1.0 ml. de la muestra diluida a una placa de petri estéril agregando unos 10 ml. de agar fundido que se mezclará cuidadosamente con la muestra. Después que el agar ha endurecido se invierte la placa para impedir que el agua que ha condensado en la tapa gote sobre el medio.

La superficie excesivamente húmeda estimula en desarrollo de colonias difusas que dificultan el aislamiento y recuento de colonias individuales. Se incuban entonces las placas hasta que se produzca desarrollo de las colonias. En otro tiempo se creía que cada bacteria de la muestra daba origen a una colonia y que en consecuencia el recuento de las colonias representaba el número de bacterias existentes en la muestra, sin embargo por motivos diversos el número de colonias será menor que el de bacterias originales.

MÉTODOS PARA ISLAMIENTO DE CULTIVOS PUROS. Sólo se encuentra cultivos puros de bacterias en la naturaleza.

En general donde se identifica una bacteria existen también otras, constituyendo una mezcla casi

siempre difícil de separar. Incluso en el cuerpo de plantas y animales afectados con enfermedades bacterianas, gérmenes saprófitos inofensivos, pueden acompañar a los patógenos como invasores secundarios.

Las bacterias son tan pequeñas que los primeros investigadores tenían grandes dificultades para separar unas de otras, y como consecuencia, a menudo trabajaban con cultivos mixtos, que a veces consideraban puros. Se han ideado diversos métodos ingeniosos para asegurar la pureza de los cultivos.

METODO DE DILUCION. Lister y los demás investigadores de su época utilizaron diluciones en serie como medio para separar una especie de una mezcla en la cual había tipo predominante. Para ello, agregaban un poco del material que contenía la mezcla de bacterias a uno de los frascos preparados con medio de cultivo líquido estéril.

De este frasco, después de mezclar bien, se agregaba una gota a otros frascos, y de éstos a otros, hasta que por diluciones sucesivas, algunos frascos recibían una sola célula, y otros ninguna. De esta manera cabía suponer que en algunos de los frascos hubiera un sólo tipo de bacterias, que fuera la deseada, especialmente, si eran más numerosas que la muestra original.

Pero este método fracasaba con frecuencia, entonces Lister utilizó jeringas graduadas para inocular soluciones estériles, procedimiento con el que obtuvo más éxito que otros investigadores, pues a él se le concede el mérito de haber aislado el primer cultivo puro de *STREPTOCOCCUS LACTIS*, que obtuvo de la leche agria en 1878.

El equipo de Lister era realmente tosco pues consistía en copas de licor con leche estéril cubiertas con tapa de vidrio.

METODO DE DERRAME EN PLACA. Entre los primeros bacteriólogos destacó Roberto Koch por sus ideas, descubrimientos y varios métodos.

Advirtió el crecimiento de pequeñas manchas y masas sobre la superficie húmeda de un trozo de patata hervida.

Por medio del microscopio comprobó en muchos casos, la presencia de microorganismos de un sólo tipo.

Como la patata no se consideraba el medio ideal, Koch buscó algo mejor, y en el transcurso de sus investigaciones se le ocurrió añadir gelatina casera, como agente de endurecimiento al caldo de res.

A esta gelatina nutritiva, fundida por el calor, añadida una pequeña cantidad del material que contenía la mezcla de bacterias, derramándolo sobre una placa de vidrio estéril cubierta con una campana de cristal para protegerla de los microorganismos del aire y dejándola enfriar para que endureciera. Al cabo de cierto tiempo aparecieron colonias, que en ocasiones eran de cultivos puros, aunque Koch no fué el primero en utilizar medios sólidos, ni en solidificar medios líquidos con gelatina, pero si se reconoce su mérito por haber perfeccionado estos métodos y generalizado su uso.

Esta técnica hizo época y desde entonces ha sido aceptada casi universalmente. No obstante, se agregaron a la misma dos importantes modificaciones

con objeto de mejorarla.

Con la placa original, la gelatina fundida se derramaba al rebasar los bordes, lo que ocupaba mucho espacio si se usaba gran número de placas. Para evitar éstos defectos, un discípulo de Koch, R. J. PETRI, ideó unos discos de vidrio poco profundos, a los que cubrían con tapa que se ponía al borde la placa, en la actualidad todavía se les llama "disco ó placas de petri".

La sugerencia de FRAU HESSE de substituir la gelatina por agar permitió la obtención de un medio que tiene la ventaja de no fundirse fácilmente por el calor, ni de pasar al estado líquido por acción de los microorganismos.

Estos descubrimientos se dieron a conocer al medio científico entre los años 1883 a 1887, y todavía se utilizan con muy pocas modificaciones.

Aunque se han obtenido por éste método miles de cultivos puros ocurre con cierta frecuencia que en una colonia existen crecimientos derivados de células de dos especies que tienden a juntarse en el medio del cultivo. Puede lograrse la purificación de estas mezclas.

METODO DE RAYAS O ESTRIAS. Como su nombre lo implica, cuando se usa éste procedimiento, se siembra ó extiende en estrias una parte del inóculo sobre la superficie de un medio sólido en una placa de petri. Si se extiende bien, pueden obtenerse por esta técnica colonias bien aisladas, este es un método rápido que requiere menos equipo que los anteriores y que se usa generalmente para examen de muestras clínicas en busca de bacterias patógenas en las mismas.

Los métodos de derrame en placa y estriación, pueden utilizarse para el aislamiento de bacterias anaerobias, si se incuban las placas en un recipiente en el que se substituya el oxígeno por otro gas, ó en el que se recurra a medios químicos para eliminar el oxígeno.

Hay muchas reacciones químicas que consumen el oxígeno, destaca entre ellas la combustión de hidrógeno, ya que durante la misma son menores las probabilidades de producción de compuestos tóxicos ó de absorción de anhídrido carbónico que puede ser necesario para el crecimiento. Se dispone en la actualidad de recipientes especiales para practicar estas reacciones con riesgos mínimos de explosión.

Si en lugar de placas de petri se utilizan tubos de agar sobrecargados de parafina para excluir el aire, puede obtenerse en la profundidad del medio de cultivo colonias aisladas de bacterias anaerobias. Sin embargo, la transferencia de tales colonias a otros medios puede ser más difícil que la de aquellas que desarrollan en placa de derrame incubada en condiciones anaeróbicas.

AISLAMIENTO DE UNA SOLA CELULA. - El modo ideal para obtener un cultivo puro a partir de una mezcla de microorganismos, sería seleccionar las células individuales del tipo deseado, de la misma manera que se podrían entresacar de una mezcla de diversas semillas en una huerta, una clase determinada de las mismas.

La dificultad de este procedimiento está en que las bacterias son tan pequeñas, que no es posible identificarlas a simple vista, y además, en que el instrumento necesario para recoger un solo germen sería

tan diminuto, que no podría usarse adecuadamente, sin embargo, estas dificultades han sido superadas en parte, mediante el uso combinado de micropipeta y micromanipulados.

La pipeta con punta capilar muy fina, se monta sobre el micromanipulador, que es un instrumento provisto de ajustes micrométricos, por medio de los cuales pueden moverse hacia adelante y hacia atrás, a la derecha y a la izquierda, hacia arriba y hacia abajo, tanto la pipeta, como cualquier otro instrumento.

Un método simple y eficaz consiste en la colocación de una serie de gotas pendientes de cultivo diluido en una lámina especial estéril valiéndose de una micropipeta de punta curva.

En una de las gotas, previamente observada, que contenga una sola bacteria se aplica una segunda pipeta desde la parte inferior y se atrae hacia la misma por aspiración suave. para transferirla a una gota de caldo estéril ó a otra lámina también estéril. Después se incuba en un porta objeto, hasta que la célula multiplique a través de varias generaciones, y que existan suficientes células para asegurar el crecimiento cuando se translade una gota a un tubo con caldo. Aunque este método parezca a primera vista el más exacto para la obtención de cultivos puros, no se usa para el aislamiento de bacterias, por lo costoso del micromanipulador, el trabajo de su manipulación y demás dificultades en la utilización de este instrumento.

INOCULACION ANIMAL. Un método usado ocasionalmente para obtener cultivos puros de microorganismos patógenos consiste en la inoculación de las muestras que los contienen a un animal susceptible. Los

saprófitos intrusos no se multiplican en el cuerpo del animal, sino que suelen ser destruidos, mientras que los patógenos que se reproducen profusamente, pueden ser transferidos a medios de cultivo.

Este es el método que se utiliza generalmente para el aislamiento de MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS del esputo de personas sospechosas de padecer la enfermedad.

De manera similar, pueden obtenerse con frecuencia cultivos puros de neumococos, por inoculación a ratones blancos de esputos que los contenga. A partir de estos animales puede transferirse el microorganismo a tubos con medio de cultivo durante el examen post mortem.

Koch creía que la inoculación a los animales era el método mejor y más seguro de obtener cultivos puros de bacterias patógenas.

También se utilizan mucho los animales en la preparación de vacunas y sueros inmunizantes. Desempeñan así mismo, un papel importante en el cultivo de virus, rickettsias, y treponema pallidum, agente productor de la sífilis, para el que sirve como medio de cultivo.

En años recientes se han empleado animales para la determinación de la toxicidad de nuevos medicamentos antes de ensayarlos en el hombre.

CULTIVOS ALMACENADOS. En los laboratorios bacteriológicos se conservan cultivos puros de aquellos microorganismos necesarios, tanto para investigación como para actividades docentes, sometiéndolos a

cuidadosos máximos y denominándolos "cultivos almacenados ó en existencia". Cada especie crece en el medio más favorable para su desarrollo y supervivencia.

El agar nutritivo estándar en tubos con tapón de algodón suele ser medio adecuado para casi todos los gérmenes patógenos de las plantas, la mayoría de los saprofitos y algunos patógenos del hombre y animal.

La sociedad norteamericana de microbiología prestó servicio al establecer la colección Estado Unidos de cultivos, tipos de bacterias, hongos, y algunos virus. También existen en algunos países colecciones semejantes de cultivos.

La mayor parte de los cultivos de este tipo se conservan mejor refrigerados, ya que en este estado permanecen latentes, acumulándose muy poco los productos que lesiona, y que es resultado del metabolismo, siendo muy escaso el número de especies que mueren a temperaturas de refrigeración.

Incluso cuando se conservan por este método, generalmente es necesario transferir estos cultivos con intervalos de pocos meses.

En la actualidad se estudia los efectos perjudiciales de la disecación y las bajas temperaturas de las bacterias, para la conservación de los cultivos almacenados. Y así vemos, que un método comunmente empleado consiste en la suspensión de las bacterias en suero ó en leche descremada ó estéril, transfiriendo después cantidades de 0.1 ml a frascos pequeños. Después se procede a la congelación de una delgada película sobre la superficie interior del frasco, haciéndolo girar

girar en una mezcla de alcohol y bióxido de carbono sólido a temperatura de -78°C . Los frascos son vaciados inmediatamente.

De esta manera se secan las bacterias mientras están todavía congeladas. Finalmente se cierran los tubos al vacío en una pequeña llama.

Estos cultivos pueden almacenarse durante varios años a 4°C . Con este método se ha logrado conservar durante años incluso bacterias patógenas sin pérdida de sus características morfológicas ó fisiológicas, incluyendo su capacidad para producir enfermedad.

Para revivir tales cultivos basta con abrir el frasco asépticamente, agregarle un medio estéril adecuado, y después de incubación, hacer transferencias ulteriores.

Este proceso de desecación, conocido como LIOFILIZACION, permite mantener gran número de cultivos sin variaciones provocadas por transferencias repetidas, disminuyendo también considerablemente el peligro de contaminación.

Las bases de desecación-congelación se ha aplicado a otros campos además del que corresponde a la conservación de cultivos bacterianos. El suero y plasma sanguíneo se conservan también por este método; en la actualidad se reúnen en bancos apropiados para uso posterior de huesos, arterias y piel.

En las industrias de elaboración de conservas alimenticias se utilizan cada vez más los procedimientos de desecación-congelación, para preparar productos que, después de su reconstrucción con agua, poseen el sabor y valor nutritivo de los alimentos naturales.

TEMA. I. b). - Historia de los medios de análisis en flora.

Van Leeuwenhok fué el primero en observar microorganismos en la saliva y el material alrededor de los dientes, se avanzó poco en cuanto al conocimiento de los microbios de la cavidad bucal, hasta 1890, -- después que se estableció la teoría de los gérmenes en la enfermedad y con el desarrollo de las técnicas de -- cultivo y tinción.

El primer gran investigador en el campo de la microbiología dental y que tuvo influencia perdurable en el estímulo de investigaciones científicas fué W.D. MILLER.

Cuando se conoció que la microflora bucal influenciaba las enfermedades generales, se despertó el interés acerca de la naturaleza y formas de los microorganismos de la boca, tanto en boca sana como en la enferma.

Se han utilizado dos técnicas básicas para estudiar la microflora de la boca; el frotis directo y la placa de cultivo.

La primera técnica consiste en el frotis directo con material obtenido de diferentes partes de la cavidad bucal, se tiñe, y se observa al microscopio.

Estos frotis muestran los diferentes tipos morfológicos de microorganismos y su localización selectiva. Se puede determinar el número y tipo de microbios mediante el empleo de técnicas especiales; de Breed y Hemacitómetro.

En estos frotis directos se pueden observar -

diversas formas como coco, bacilos y formas espirales. Las diferencias en las formas de los cocos (redondos, - en grano de café, ó lenticular) y las variaciones en la - disposición de las células (sencilla, en pares, masas - irregulares, cadenas de células, y paquetes de cuatro - u ocho proporcionan información adicional. En cuanto - a bacilos o formas en bastón se pueden distinguir sus - tamaños relativos en diámetro y longitud, si terminan - en punta en una extremidad ó en ambas, si permanecen - adheridas y forman cadenas, o si se disponen solas ó - en pares. Las formas en espiral son rígidas o flexibles.

Los vibriones son cortos, sencillo o unidos y - curvos, los espirilos son helicoidales o de formas cur- - vas. Ambas son rígidas.

Las formas espirales flexibles forman un gru- - po de organismos conocidos como espiroquetas. Para - observar espiroquetas se prefiere el microscopio de - - campo obscuro a los frotis teñidos.

Aunque la técnica de frotis directo proporci- - ona alguna información en cuanto a los tipos morfológi- - cos básicos que habitan en la cavidad bucal, no propor- - ciona información en cuanto a la especie.

Pero se emplea esta técnica para determinar - el número total de microorganismos, tanto vivos como - muertos, que se han obtenido de diferentes áreas de la - cavidad bucal.

El cultivo en placa, es la otra técnica básica - que se emplea para diferenciar las células microbianas - viables del material bucal.

Se puede obtener el material de la cavidad -

bucal empleando una torunda estéril de algodón, raspando con un instrumento dental ó bisturi, ó una muestra de saliva, obtenida con ó sin estimulación.

La muestra de saliva por estimulación, se obtiene haciendo que la persona mastique un pedazo de parafina. Se puede depositar la muestra directamente, haciendo estrias en un medio de cultivo enriquecido, ó se les puede inocular en un medio selectivo.

Estas placas estriadas proporcionan valoración cualitativa acerca de los tipos de organismos presentes en la muestra. Se puede practicar una valoración cuantitativa pensando la muestra, haciendo diluciones adecuadas, y colocando cantidades determinadas de la dilución en medio enriquecido o selectivo.

Los medios enriquecidos como; infusiones de cerebro-corazón agar, soja en agar y tripticasa solo ó fortificado con plasma o sangre, se emplean frecuentemente para conocer el número total de microorganismos cultivables, mientras que los medios selectivos como el medio de Niven, lactato de Rogosa, agar S L de Rogosa, agar Omata-Disraely, y el medio de Nickerson proporcionan el número de microorganismos específicos como STREPTOCOCCUS SALIVARIUS, VEILLONELLA, LACTOBACILOS, BACILOS FUSIFORMES, y LEVADURAS.

En los medios selectivos se puede estimar el número de células viables u organismos específicos.

La cuenta total de células microbianas observadas en el frotis directo varía considerablemente de la cuenta viable total obtenida por cultivo. El frotis microscópico directo siempre da cuentas más altas. La

proporción de la cuenta de frotis con la cuenta de cultivo se ha estimado como de 40 a 1, ó más. En otras - palabras, la técnica del cultivo hace crecer, aproxima- damente, solo un microorganismo en 40. Esto no quie- ré decir que los microorganismos restantes estén muer- tos.

Se conoce que los medios selectivos no hacen- crecer todos los tipos microbianos específicos para los cuales son selectivos.

Los medios selectivos tienen efectos inhibito- rios hasta para algunos de los microbios viables que fa- vorecen.

Si se compara el número de bacilos fusifor- mes en un frotis directo, hecho a una persona con Gin- givitis de Vicent, con el número de colonias de este or- ganismo desarrolladas en un medio selectivo, se obser- va que sólo crece un pequeño número de bacilos.

Las células del frotis muestran morfología - normal y se tiñen uniformemente, característica de - células viables. Parece ser que muchas de las células- viables de los bacilos fusiformes no pueden crecer en - el medio selectivo.

Los medios enriquecidos favorecen en creci- miento de mayor cantidad de microorganismos especifi- cos, pero estos medios no pueden ser usados con éxito- en determinaciones cuantitativas selectivas,

Por ejemplo en el material de deshecho de - las encías, microorganismos exigentes como los baci- los fusiformes no pueden crecer de inmediato en los - - medios enriquecidos; y al competir con otros microorga- nismos

nismos menos exigentes pueden ser inhibidos.

Para determinar el número de microorganismos cultivables, se deben sembrar dos juegos de placas de cultivo. Uno de los juegos se incuban en condiciones aerobias, el otro en condiciones anaerobias.

Se piensa que cuando se expone al aire bacterias anaerobias se produce pequeñas cantidades de peróxido de hidrógeno. Como los anaerobios estrictos no tienen enzima catalasa, este peróxido se acumula en el medio en concentraciones tóxicas y se inhibe el crecimiento. Los microorganismos aerobios que tienen enzima catalasa pueden desintegrar el peróxido de hidrógeno conforme se forma y así se evita la concentración de tóxicos.

TEMA. - c) Flora Bacteriana.

MICROFLORA BUCAL. - La cavidad bucal es accesible a la introducción de tipos diferentes de microorganismos. Los microorganismos del agua, alimentos, aire, y de las manos, fácilmente entran en la cavidad bucal.

Se ha dicho que casi todos los microorganismos que se han identificado se han podido aislar en un momento dado en la cavidad bucal.

La microflora bucal es numerosa y variable en cuanto a tipo. La cavidad bucal puede ser considerada como una incubadora ideal para los microbios. Tiene una temperatura de 35 a 36°C, es muy húmeda, provee una excelente variedad de alimentos y tiene diversas tensiones de oxígeno, muchos microorganismos ae-

robios, facultativos y anaeróbios encuentran condiciones favorables para su crecimiento en la boca.

¿Cuál es la microflora normal? - El concepto actual de normalidad depende de las técnicas empleadas para obtener el material de muestra, los tipos de medio de cultivo empleados, las condiciones de incubación, la prueba bioquímica usada para clasificar los microorganismos cultivables, y las técnicas de preparaciones directas húmedas y teñidas. Aunque estas técnicas tienen limitaciones, los resultados describen adecuadamente la flora bucal de la mayor parte de los sujetos jóvenes ó viejos, que viven bajo condiciones ambientales específicas.

Los estudios de la flora bucal natural del hombre deben comenzar con la primera aparición de los microorganismos en la cavidad bucal. Esto quiere decir que el análisis de la flora bucal debe iniciarse desde la época del recién nacido.

En el momento del nacimiento, la boca del niño puede ser estéril ó estar contaminada con varios tipos de microorganismos, incluyendo estafilococos, estreptococos, bacilos coliformes y bastoncillos grampositivos. La fuente de origen de estas bacterias es el medio a que el niño se va exponiendo gradualmente después del nacimiento.

El niño primero entra en contacto con la microflora de la vagina de la madre y después con el ambiente exterior.

La microflora bucal temprana, después del nacimiento, es principalmente aerobia y anaerobia facultativa. El anaerobio *Veillonella Alcalescens*, se ha ais

lado ocasionalmente en niños menores de dos días, y en forma regular en niños mayores de una semana.

Los Bacilos fusiformes anaerobios han sido cultivados de la boca de niños menores de dos meses de edad y de casi todos los niños antes de la aparición de los primeros dientes. Los bacilos fusiformes crecen en número durante en cuarto y octavo mes, y peptostreptococcus anaerobus aparecen en niños mayores de cinco meses.

La flora dominante de la cavidad bucal del niño, antes de la aparición de los dientes, es principalmente de naturaleza facultativa; y con la aparición de los dientes hay aumento de las formas anaerobias.

Según un estudio de muestras bucales de recién nacidos y niños de un año, el Streptococcus fué el único microorganismo que se cultivo en forma continua. Se ha comunicado que los estreptococos representan 98 por 100 de los microorganismos cultivables en muestras iniciales, pero declinan a 70 por 100 al final del primer año.

Otros microorganismos presentes en forma constante durante el primer año de la vida fueron estafilococos, veillonella y neisseria, Se aislo actinomicetes, lactobacilos, nocardia, y bacilos fusiformes en aproximadamente la mitad de los niños, mientras que Bacteroides, Corynebacterium, candida, leptotrichina y tipos coliformes se aislaron en menos de la mitad de los casos.

La especie dominante de estreptococos aislada de la mitad de los recién nacidos fué STREPTOCOCCUS SALIVARIUS.

Las relaciones cuantitativas y cualitativas de los microorganismos bucales cambian con la aparición de la dentición, la pérdida de la dentición, el uso de dentaduras artificiales, el tipo de dieta, higiene bucal del sujeto, y el grado salud ó enfermedad.

Con la aparición de los dientes, hay un aumento en las formas anaerobias, leptotrichia, espiroquetas, bacilos fusiformes, formas espirales, y vibrio. En la pérdida parcial de los dientes esta microflora persiste sólo en el lugar en que permanece el diente.

La presencia de bacilos fusiformes y espiroquetas está relacionada con la dentición natural. La pérdida completa de los dientes causa una inversión de la flora, de manera que se torna predominantemente del tipo anaerobio facultativo.

Las formas anaerobias reaparecen generalmente al usar dentaduras artificiales. En las bocas descuidadas ó enfermas, los tipos bacterianos son principalmente anaerobios y proteolíticos, mientras que en la boca bien cuidada la flora dominante es principalmente aerobia, facultativa, y acidógena.

El número de microorganismos expulsados de la cavidad bucal, mediante enjuagues de la boca varía durante el día.

Se ha observado que la cuenta bacteriana es más alta en la mañana al levantarse. Esta cantidad disminuye al ingerir el desayuno cepillarse los dientes y enjuagarse la boca, se aprecia un crecimiento gradual antes del alimento del mediodía, después del alimento hay un descenso.

Después del alimento de la noche se observa una aumento, seguido de descenso. Las cuentas que se practican a la mañana siguiente son más altas y reflejan el largo período de incubación nocturno.

Se ha comunicado que el análisis de cultivos de saliva del adulto no estimulada, tiene una cuenta microbiana aerobia de aproximadamente 40 millones por mililitro de muestra, con variación de 5 a 114 millones; y una cuenta total de anaerobios de 110 millones por mililitro de muestra, con variación de 10 a 384 millones.

Se ha dicho que la concentración de microorganismos cultivados de material gingival es de 15 000 millones de cuenta aerobia y 36 000 millones de cuenta anaerobia por gramo, respectivamente.

Se ha comunicado que las cuentas de materia gingival son de 160000 millones por gramo de material.

Los análisis bacterianos de material gingival de un grupo de sujetos normales y con enfermedad periodontal muestran una cuenta microscópica media de 170 000 millones por gramo.

La cuenta aerobia viable media fué de 16 000 millones, mientras que la cuenta anaerobia viable media fué de 40 000 millones.

Las cuentas microscópicas altas parecen indicar que el material gingival está compuesto casi totalmente de bacterias.

La comparación de la cuenta anaerobia viable con la cuenta aerobia viable indica que la mayor parte de las bacterias del material gingival son anaerobias --

obligadas. Las cuentas microscópicas, aerobias y anaerobias viables muestran que la placa dental contiene microorganismos por miles de millones. Las comunidades microbianas mixtas establecidas en los dientes, surco gingival y otras áreas de la boca, han sido llamadas selectivamente microcosmos.

Se sabe que la placa dental se regenera en la superficie de un diente limpio en 24 a 48 hrs. Puede ser que durante el período de regeneración los organismos mejor establecidos y menos exigentes en sus requerimientos de nutrientes se multipliquen rápidamente.

Es durante este período cuando estos microorganismos realmente están en fase de crecimiento acelerado. Cuando el número ha aumentado hasta un punto determinado, se establece competencia entre los diferentes tipos, lo que puede producir retraso del crecimiento y declinación hacia la fase estacionaria. Por lo que se conoce acerca de los cultivos de tubo de ensayo, de los organismos bucales y del medio bucal, se podría afirmar, teóricamente que los microorganismos de la cavidad bucal probablemente representen dos fases de la curva de crecimiento, unas veces la fase acelerada, y otras la fase estacionaria. Es posible que entren en una fase de declinación, pero es dudoso que los miembros de la microflora natural de la boca entren alguna vez en la fase final de muerte y que desaparezcan del medio bucal en el sujeto normal.

MICROFLORA DE LA PLACA DENTAL. - - -

Existen varias ideas para explicar el mecanismo de la formación de la placa.

Se ha estimado que las bacterias constituyen cerca del 70 por 100 del volumen de la placa. Se ha

comunicado que las determinaciones microbianas cuantitativas y cualitativas de la placa de sujetos jóvenes tienen una cuenta microscópica total media de 250 000 millones de organismos por gramo, peso húmedo, una cuenta anaerobia viable media de 46 000 millones y una cuenta aerobia viable media de 25 000 millones por gramo, peso húmedo.

La identificación de la mayor parte de los microorganismos cultivables, basado en la forma, tinción de Gram y algunas pruebas bioquímicas, muestra que la placa contiene las siguientes bacterias; en estos porcentajes;

Estreptococos facultativos	27	%
Difteroides facultativos	23	%
Anaerobios difteroides	18	%
Peptoestreptococos	13	%
Veillonella	6	%
Bacteroides	4	%
Fusobacterias	4	%
Neisseria	3	%
Vibrio	2	%

La técnica de identificación no registro organismos que representen menos del 1 a 2 por 100 de la placa.

Ninguno de los Estreptococos aislados era *STREPTOCOCCUS SALIVARIUS*. Por lo tanto, este microorganismo no predomina en la placa dental. No se observaron *Bacteroides Melaninogenicus* y lactobacilos; por lo tanto, cuando están presentes probablemente constituyan menos del 1 por 100 de los microorganismos de la placa.

En las cuentas microscópicas de campo las --
Espiروquetas posiblemente representen menos de 0.1 --
por 100 de los organismos de la placa dental.

La placa inmadura, que comienza a depositarse en los dientes después de medidas profilácticas, está compuesta de mucoides salivales y algunos microorganismos.

El desarrollo de la placa madura muestra que los microorganismos crecen en los defectos de la superficie y reemplazan al material mucoide.

La placa que se desarrolla en 48 hrs., generalmente es más gruesa en las áreas proximales que en las superficies tersas dentarias.

MICROFLORA DEL SURCO GINGIVAL. - La presencia, o ausencia de microorganismos en el surco gingival normal sigue siendo un tema discutible. Las principales dificultades técnicas han sido evitar la contaminación de la muestra, por las encías, a nivel del cuello de los dientes, al tomar una muestra del surco.

Se cultiva dos veces más cantidad de bacterias en las regiones mesial, distal y palatina del surco gingival sano de los dientes superiores y anteriores, que en el área vestibular.

Esta diferencia puede explicarse por la facilidad relativa con que llega al área vestibular el efecto limpiador del cepillo de los dientes.

Los estudios realizados en el material obtenido del surco gingival de sujetos normales muestran una --

cuenta microscópica media de células bacterianas de --
130 000 millones por gramo, peso húmedo.

La cuenta total media de bacterias anaerobias cultivables fué 35 200 millones y la cuenta bacteriana - aerobia 19 700 millones por gramo, peso húmedo. Las cuentas medias de estreptococos, bacilos fusiformes, -- espiroquetas y bacteroides melaninogenicus muestran - que la cuenta total de estreptococos representan 14 000 - millones; estreptococos facultativos 4 9000 millones; bac teroides melaninogenicus 820 millones; fusobacterium 12 millones; y las espiroquetas con la técnica del micros-- copio de campo obscuro 560 millones por gramo, peso-- húmedo.

Las investigaciones acerca de los microorga-- nismos que se cultivan del material del surco gingival - de niños con dentición temporal mostraron lo siguiente;

Bastones facultativos grampositivos	29.7 por 100
Cocos facultativos grampositivos	21.9 por 100
Bastones anaerobios gramnegativos	16.3 por 100
Cocos anaerobios grampositivos	16.3 por 100
Bastones anaerobios gramnegativos	8.8 por 100
Cocos anaerobios grampositivos	3.5 por 100
Batones facultativos gramnegativos	1.8 por 100
Cocos facultativos gramnegativos	1.7 por 100

Entre los Cocos facultativos grampositivos, - el estreptococo viridans se aisló más frecuentemente. - Otros cocos fueron identificados como enterococos.

Algunos de los cocos anaerobios gramnegati-- vos fueron identificados como Veillonella Alcalescens; - los cocos anaerobios grampositivos semejabán pepto-- treptococos.

De los bastones anaerobios gramnegativos, algunos eran fusobacterium típicos. Algunos de los bastones anaerobios grampositivos fueron considerados lactobacilos anaerobios. También se encontró Neisseria.

Bacteroides Melaninogenicus parece desarrollarse al final en la cavidad bucal de los niños. Se puede aislar este microorganismo en el surco gingival en aproximadamente 20 por 100 de niños entre las edades de 5 y 13 años; mientras que rara vez se le encuentra en niños preescolares, aumenta en el período de dentición mixta, y en la adolescencia siempre está presente.

MICROFLORA DE LA LENGUA. - Las bacterias cultivables predominantes que se han aislado de la lengua humana son de los siguientes géneros;

Estreptococos facultativos	38.3 por 100
Veillonella	14.5 por 100
Difteroides facultativos	13.0 por 100
Difteroides anaerobios	7.4 por 100
Micrococos estafilococos	6.5 por 100
Bacteroides	5.3 por 100
Peptoestreptococcus - Peptococcus	4.2 por 100
Neisseria	2.3 por 100
Vibrio	2.1 por 100
Fusobacterium	0.8 por 100
Bastones gramnegativos no identificados	3.2 por 100
Cocos gramnegativos no identificados	2.6 por 100

De total de estreptococos facultativos aislados, STREPTOCOCCUS SALIVARIUS representó el 21 por 100; otros estudios han mostrado concentraciones de 55 por 100 y mayores.

De los bacteroides, *Bacteroides Melanogenicus* probablemente represente menos de 1 por 100 de los microorganismos aislados de la lengua. No se observaron espiroquetas.

MICROFLORA SALIVAL. - Gran parte de las investigaciones hechas acerca de los organismos bucales han empleado muestras salivales en lugar de placa dental y material gingival.

Las investigaciones de las fuentes de las bacterias salivales indican que *Streptococcus Salivarius* comprende 47 por 100 de los estreptococos facultativos presentes en la saliva, 21 por 100 a 55 por 100 de los estreptococos facultativos de la lengua, y 10 por 100 de los estreptococos facultativos de la mejilla.

Este organismo comprende menos de 1 por 100 de los estreptococos facultativos de la placa y surco gingival.

No se considera que la placa dental sea fuente de *Streptococcus Salivarius* que se encuentran en la saliva.

Para saber si el material del surco gingival puede ser la fuente de las bacterias salivales, el análisis de bacteroides *Melaninogenicus* muestra que este organismo representa 5 por 100 ó menos del total de bacterias cultivables aisladas del surco gingival.

Representa menos de 1 por 100 de los aislados de la placa, mejilla, y lengua y también menos de 100 de los aislados de la saliva.

Estos datos indican que el surco gingival no es la fuente principal de las bacterias salivales. Así pues, la fuente principal de las bacterias salivales parece ser la lengua.

PRESENCIA NORMAL DE MICROORGANISMOS EN LAS MUCOSAS DEL SER HUMANO. -

Microorganismos	Boca	Faringe	Nariz	ojo	intest.	genitales	vagina ext.
Estafilococos.....	&	&	+	&	&	&	&
Otros micrococos....	&	&	&		&	&	&
Streptococos Hemo- liticos	++	++	&		+	+	&
Streptococos anaero- bios.....	+	&			&	&	&
Neumococos.....	&	&	&				
Neisserias	&	++	&				
Veillonellas.....	+					&	
Bacilos.....	&	&			&		
Clostridios					+		
Corynebacterias.....	&	&	+	&		+	&
Lactobacilos.....	+				+		++
Micobacterias.....						+	
Actinomicetos.....	+	+			&		
Esqueriquias	&				++		&
Aerobacterias.....					&		
Klebsielas.....					&		
Proteus.....	&				&	&	
Seudomonas.....					&	&	
Hemofilus.....	&	&	&				
Dialister.....		&					
Bacteroides.....	++	&			++	&	&
Fusobacterias	+	&			&	+	
Vibriones anaerobios..	+	&			&	&	
Espiroquetas.....	++	&			+	+	
Levaduras.....	+				&	&	+
Muguet.....	&				&		&
Protozoos.....	&				&	&	&
Virus.....	&	&	&			&	

& indica presencia irregular

+ indica presencia más frecuente

++ indica presencia regular

- durante el período de la pubertad

TEMA I. - d). - Grupos específicos de la Microflora Bucal; y Generalidades de Patogenia.

COCOS, BACILOS, VIBRIONES, ESPIRILOS. - Las bacterias verdaderas son células únicas, rígidas y no diferenciadas. Hay gran cantidad en la boca.

Se presentan en formas de esferas ó cocos, de bacilos ó bastones, de coma ó vibriones, y de espirales llamados espirilos. Su tamaño varia entre 0.2 a 2.0 micras de diametro, y 0.2 a 60 micras de longitud. Algunos de los bacilos, vibriones y espirilos tienen flagelos como órganos de locomoción. La mayoría de los cocos y algunos de los bacilos carecen de motilidad.

Para su estudio, y como guía terapéutica, las bacterias han sido examinadas mediante cultivos ó en frotis teñidos. Cuando por ejemplo un frotis teñido con cristal violeta se trata con yodo diluido y, finalmente con alcohol, algunas retienen su coloración púrpura, mientras que otras lo pierden y se hacen incoloras. Estas pueden teñirse con colores de contraste, y así tenemos dos tipos de bacterias; las que retienen su color original son grampositivas, y las que lo pierden son gramnegativas. Esta clasificación tiene importancia, y que las bacterias grampositivas son más susceptibles a las sulfamidas, a la penicilina y a otros antibióticos que las gramnegativas.

Casi todas las bacterias pueden desarrollarse en medios sin vida de los cuales absorben sus alimentos, estos medios pueden ser líquidos ó sólidos.

Algunos cocos en medios de cultivo líquidos pueden distinguirse por la disposición que toman las células.

lulas, según el plano de la división celular. Algunas se disponen en formas de racimos (estafilococos) otras en cadenas largas (estreptococos), y algunas en pares (diplococos). Cuando en la boca, no toman estas formas tenemos que identificarlas por otros medios..

Algunos de estos microorganismos pueden ser diferenciados, en medios de cultivo sólido, por el aspecto y morfología de las colonias. Otros tienen que ser identificados de acuerdo con los requerimientos de su crecimiento, como oxígeno, materias nutritivas, concentración de iones de hidrógeno, ó por los productos de su actividad metabólica.

Casi todos los habitantes de la boca pueden vivir en presencia ó ausencia de oxígeno libre; algunos lo necesitan (aeróbios).

ENDAMOEBIA GINGIVALIS. - Se encuentra principalmente en las bolsas Parodontales supuradas, varía su diametro entre 6 a 35 micras. Tiene núcleo esférico y su citoplasma presenta vacuolas, bacterias y partículas de células ingeridas, incluyendo los núcleos de algunos leucocitos.

También Tricomona Tenax puede encontrarse en la boca.

VIRUS. - La mucosa bucal aloja seguramente el virus que en condiciones normales no se manifiesta.

El virus del Herpes Simple, habitual particular de aproximadamente 100 milimicras de tamaño, es un habitante de las células epiteliales de la boca, en condiciones ideales para su crecimiento como las que hay en la boca se divide y multiplica rápidamente.

LACTOBACILOS. - De la familia de las lactobacterias, género lactobacilo. Viven principalmente en la boca, tubo digestivo y vagina. Los más importantes lactobacilos son el aerobio *L. acidófilo*, que al parecer es idéntico al bacilo de Boas-Oppler y probablemente también al bacilo de Doderlein y al anaerobio *L. bífido*.

Se trata de bacterias que tienen forma de bastoncillos inmóviles, grampositivos y no forman esporos. Producen la fermentación de todos los azúcares, forman ácido, pero sin creación de gases. La tolerancia en el medio ácido es considerable; un valor pH de aproximadamente 5 es soportando por muchos. Los lactobacilos no producen hemólisis ni forman indol. El *L. acidófilo* también conocido con el nombre de bacteria necrodenal, toma parte activa en la creación de la caries, seguramente debido a que forma ácido láctico, mientras que, por otra parte, codetermina, a causa de la misma propiedad, el grado de pureza de la vagina.

VEILLONELLAS. - De la familia de las neisserias, género veillonella. Se encuentran principalmente en la boca. Son cocos muy diminutos, gramnegativos, anaerobios y se desarrollan en colonias irregulares. Existen diversas clases y variedades que, debido a la disociación de los hidratos de carbono con formación de indol y H_2S , se distinguen extraordinariamente unos de los otros. La mayoría de ellos parece que no desdoblan la sacarosa. Se han encontrado, por ejemplo, en la piorrea alveolar, abscesos dentarios, gangrena pútrida de la más diversa localización y en la apendicitis, pero su importancia patógena es discutible.

Bacteroides. - De la familia de las parvobacterias, género bacteroide. Aparecen principalmente en el intestino, boca y genitales externos. Son bastonci-

llos de forma múltiple, inmóviles, gramnegativos y no forman esporos. Son representantes de éste grupo; los bacteroides frágiles, necróforos, fundiliformes y melanigénicos que se han hallado con frecuencia, junto con otros parásitos anaerobios de la mucosa, en flemones y procesos ulcerosos de la cavidad bucal. Asimismo se han observado en los abscesos peritonsilares y en las subsecuentes septicemias y en el pus de las fistulas de los abscesos actinomicóticos. Diversos cultivos puros son mortales para los conejos por vía intravenosa.

Fusobacterias. De la familia de las parvobacterias, género bacteróide, especie fusobacteria. Concurren principalmente; en la boca y genitales externos. Estas bacterias endémicas, de vital importancia para la cavidad bucal, están en estrecha relación con los bacteroides antes citados. Se distinguen de éstos, ante todo, por su constitución esbelta con típicos extremos de los bastoncillos terminando en punta y, además, por la frecuente granulación del citoplasma. Los gránulos de estas bacterias son gramnegativos y opuestos a los de los bacteroides, que son grampositivos. Además las fusobacterias son estrictamente anaerobias inmóviles y no producen esporos. Sacarolíticamente son débiles, forman indól y H_2S . Se han descrito, sin embargo, una infinidad de clases de fusobacterias, pero hasta el momento no existe una división efectiva comprobada de las particularidades determinantes del grupo (BOE).

Se pueden comprobar con bastante regularidad en la gingiva de la persona sana y es importante saber que su número aumenta considerablemente, cuando se origina un proceso inflamatorio leve en la cavidad bucal de cualquier origen. La importancia clínica de dichas bacterias estriba principalmente en su participación acti

va en determinadas infecciones mixtas específicas. Encultivos puros son por regla general apatógenas.

Leptotrichia bucal. Se encuentra principalmente en la boca. Consta de filamentos largos, sin ramificaciones, grampositivos, contienen granulaciones que se colorean con azul de metileno y se desarrollan en reducida cantidad de aire y hasta en anaerobiosis. Los filamentos se deshacen en cortos bastoncillos, los cuales, cuando envejecen, se decoloran fácilmente con el alcohol cuando las preparaciones están coloreadas con el gram; pudiendo aparecer entonces como gramnegativos. De las fusobacterias y de los lactobacilos se distinguen -- por su comportamiento serológico y por la imposibilidad de formar indol y H_2S , Gins los halló frecuentemente en los dientes cariados. Muller los considera como núcleos de precipitación de las sales de calcio en la -- formación del sarro dental.

VIBRIONES ANAEROBIOS. - De la familia de las suedomonadáceas, género vibrio, especie espirilo. - Viven principalmente en la boca. Hasta ahora no han sido investigadas sistemáticamente, si bien según algunos autores se presentan generalmente con otros anaerobios de significación patógena. Existen clases grampositivas y negativas que, además de aparecer en la cavidad bucal, surgen en el intestino grueso y en las zonas de transición de la piel con la mucosa de los genitales-externos. Son muy móviles y tienen la forma de una coma ó de espiral.

En la cavidad bucal; además de los acabados - de citar, encontramos especies de las familias; Trepone ma, borrelia, actinomicetos y neisseria.

ESTAFILOCOCOS . - Cocos en forma de raci-

mos, se desarrollan en grupos irregulares como racimos de uvas de diversos tamaño. En el caldo de cultivo hallamos tantos cocos aislados como en parejas ó dispuestos a modo de cortas cadenas de células. Nunca se han encontrado cadenas largas y casi siempre están dispuestos en montones conglomerados. Estos consisten en células esféricas de un diametro de 0.8 a 10 micras aproximadamente. Son por regla general más pequeños y su tamaño más regular que el de los micrococos saprófitos. Son estrictamente grampositivos y siempre inmóviles. Se desarrollan preferentemente bajo condiciones aerobias, pero también pueden multiplicarse en ausencia de oxígeno atmosférico, como anaerobios facultativos. Algunas especies son necesariamente anaerobias, otras en cambio, precisan una determinada tensión de CO_2 . Los Estafilococos, generalmente no tienen exigencias para su desarrollo y crecen en los medios de cultivos corrientes.

Sobre el agar forman colonias prominentes, redondas, regulares, con un brillo uniforme y que según la variedad presente suelen estar pigmentadas de modo característico; Estafilococo áureo = amarillo dorado; Estafilococo citreus = amarillo limón; Estafilococo blanco = blanco porcelana.

La mayoría de los estafilococos patógenos pertenecen a la especie áurea.

Pese a las propiedades bioquímicas y biológicas de los estafilococos son variables, puede decirse que por regla general licúan la gelatina, fermentan diversos hidratos de carbono (en especial la glucosa, sacarosa, lactosa y manita) formando ácido láctico; reducen los nitratos a nitruros, agrian la leche (y a veces la coagulan), pero jamás forman indol.

Sobre agar-sangre originan con frecuencia la típica hemolisis-B. Sus funciones bioquímicas son más diversas que las de los micrococos apatógenos.

Los estafilococos son relativamente resistentes si los comparamos con las demás bacterias exentas de esporos; pueden permanecer semanas vivos fuera del organismo, ya que resisten bien a la desecación y al frío. Son también menos sensibles a muchos quimioterápicos que, por ejemplo, los estreptococos hemolíticos, los neumococos ó los gonococos. Además tienen especialmente a formar estirpes resistentes a la medicación (penicilina, estreptomycin). Mientras que los innumerables micrococos cuya ausencia se ha comprobado en el medio ambiente del ser humano, en el agua, en el aire, el polvo y objetos de uso, casi siempre suelen pertenecer a la clase no patógena, forman los patógenos facultativos, una parte de la flora normal de la piel y mucosas del hombre, en las mucosas tienen preferencia por el espacio nasofaríngeo.

Los estafilococos producen una serie de sustancias interesantes en cuanto a la patogenicidad y, en parte, muy tóxicas para los animales de laboratorio. Además de las diversas hemolisinas, forman las leucocitos y una exotoxina, que origina la necrosis tisular. Además ciertas cepas aisladas producen una enterotoxina muy estable al calor, que puede resistir la cocción durante treinta minutos y juega un papel importante en la frecuente intoxicación por sustancias alimenticias. Una particularidad especialmente característica de los estafilococos patógenos es la de sintetizar, con la ayuda de un fermento producido por ellos mismos, la coagulasa, que coagula el plasma sanguíneo. Otro fermento formado principalmente por estafilococos patógenos es la fibrinólisis, que está capacitada para disolver a la fibrina.

Además los estafilococos forman un factor de difusión que aumenta la permeabilidad del tejido conjuntivo, siendo por lo tanto de gran importancia para el origen de lesiones tisulares, este factor parece tener relación con la hialuronidasa; resulta relativamente estable al calor y puede comprobarse en los experimentos con animales de laboratorio.

Los cuadros patológicos originados por los estafilococos son extraordinariamente diversos y abarcan desde una gama de ligeras pustulas locales ó forúnculos hasta la septicemias de resultados dramáticos ó funestos.

Al género NEISSERIA. - (familia de los neisseriaceas) pertenecen una infinidad de gérmenes no patógenos de las mucosas. Sin embargo, dos especies del género son los gérmenes de típicas enfermedades infecciosas; una de ellas es la neisseria intracelular (meningococo, y la otra, el neisseria gonorreico (gonococo). Con gran frecuencia los meningococos están dispuestos por parejas y de ahí su denominación de diplococos intracelulares; los aislados son ovales, son inmóviles y gram-negativos. En medios de cultivo adecuado se desarrollan los meningococos como colonias lisas, transparentes y delicadas, con un borde uniforme y de consistencia blanda. No origina hemolisis. Son estrictamente aerobios y fermentan la dextrosa y maltosa, con lo cual pueden formar ácido, pero jamás gases.

ESTREPTOCOCOS. - Pertenecen a la familia de las lactobacterias, género estreptococo, son microorganismos muy importantes, causa de diversas enfermedades, su frecuente aparición tanto en la cavidad bucal sana como en la enferma, justifica un estudio a fondo. Tienen forma de cocos en cadena. Cada eslabón

de la cadena es esférico u ovalado y su eje longitudinal es paralelo al de la cadena, el diametro de un solo coco es aproximadamente de 1 micra, aunque existen cocos mucho más pequeños, de un cuarto ó la mitad de ese tamaño, las cadenas pueden ostentar longitudes muy diferentes, pero tampoco son raras las formaciones de diplococos.

En cultivos con buenas condiciones de crecimiento son los que se desarrollan más uniformemente. En cambio cuando los medios de cultivo no son favorables pueden aparecer pleomorfismos y, en ciertos casos, formas bizarras. Los típicos representantes son grampositivos e inmóviles.

En medios sólidos sus colonias tienen forma de disco, generalmente delicadas y pequeñas, de contornos netos y constitución superficial. Las cepas que se desarrollan en cadenas largas forman un sedimento granulado en los medios de cultivo líquido, permaneciendo clara la parte superior.

Generalmente no licúan la gelatina, desdoblan los más diversos hidratos de carbono con la formación de ácido, los estreptococos se desarrollan pobremente en medios de cultivo sencillos, siempre y cuando no sean enriquecidos con sangre ó suero. Esta clase de medios son, además, muy apropiadas para la diferenciación de las diversas especies, ya que ponen de manifiesto de un modo sencillo e instructivo sus particularidades hemolizantes y la clase de hemolisis.

Poseemos datos más concretos sobre la hemolisinas de los estreptococos, llamada también estreptolisina, que disuelve los globulos rojos, haciendo aparecer hemoglobina en el medio circundante, hablándose en

tonces de hemolisis Beta. En cambio no sabemos nada con respecto a la naturaleza de la llamada hemolisis - alfa, que es incompleta, y de la rara coloración verde-oscuro de la hemoglobina mediante los estreptococos - Viridans, que se tornan verdosos.

Aparte de las hemolisinas que son extremadamente tóxicas para los animales de laboratorio, producen los estreptococos de los más diversos grupos serológicos y sustancias importantes por su acción patógena.

CLASIFICACION SEGUN SHERMAN DE LOS ESTREPTOCOCOS AEROBIOS.

- a). - Estreptococos hemolíticos
- b). - Estreptococos viridans
- c). - Estreptococos del ácido láctico
- d). - Enterococos.

No podemos detallar aquí las múltiples enfermedades producidas por los estreptococos en sus localizaciones más diversas, gravedad, y propagación, como las infecciones de los órganos respiratorios y de la piel (erisipela), flemones, infecciones puerperales, escarlatina, septicemia por estreptococos y otras más. Sin embargo, es de suma importancia referirnos a las endocarditis aguda y subaguda relacionadas con la flora de estreptococos de la cavidad bucal.

Los estreptococos que aparecen con mayor frecuencia en la cavidad bucal son los que pertenecen al segundo de los grupos antes citados, es decir, los que (enverdecen) el cultivo sanguíneo y originan hemolisis Alfa. Pueden localizarse regularmente en la mucosa sana, así como en los focos infecciosos de la cavi-

vidad bucal, por lo que se les denomina generalmente - "estreptococos bucales".

La frecuente comprobación de esta clase de - gérmenes patógenos en la sangre poco después de la ex - tracción de una pieza dentaria ó de una amigdalectomía, - de una parte, y la coincidencia de identidad entre los - gérmenes patógenos de la endocarditis lenta y los "es - treptococos bucales", de otra, ha sido la razón de ha - berse llegado a establecer una relación causal entre las intervenciones de la región de la cavidad bucal y la en - docarditis lenta subsiguiente, máxime si el enfermo pa - decía ya una lesión cardiaca (hereditaria ó de génesis - reumática).

Para el odontólogo tiene especial importancia - la especie corynebacteria de la familia de las Coryne - bacterias, a la cual pertenece la corynebacteria difté - rica, que en honor a su descubrimiento y al primero - en reconocer su importancia etiológica, se denomina - - también bacterias de Klebs-Löffler.

En este grupo de bacterias distinguimos tres - tipos distintos entre si; se trata de microbios grampo - sitivos, en forma de bastoncillos e inmóviles. No for - man esporos, pero llevan frecuentemente abultamientos - claviformes en sus extremos, que contienen los caracte - rísticos "granulos polares", que pueden diferenciarse - por coloraciones especiales, estando su protoplasma dis - tribuido de forma irregular, de modo que a causa de - una absorción irregular del colorante, puede aparecer - todo el cuerpo de la bacteria como encintado.

Las corynebacterias diftéricas pueden tener - longitud muy diversa (aproximadamente de 2 a 5 micras) y su espesor oscila entre 0,5 y 1,0 micras.

HONGO DEL MUGUET. - Es clasificado en el sistema de los hongos imperfectos, aparece frecuentemente en la cavidad bucal.

Por sus cualidades de desarrollo queda clasificado entre los dos grandes grupos de Blastomicetos e hifomicetos. Pertenecce al género *Candida* y es casi el único representante conocido como gérmen patógeno, incluso para los animales de laboratorio, su verdadera denominación científica es *Candida Albicans*.

El *Candida Albicans* es un microorganismo -- sacaromiceto ovalado, que se multiplica en los medios de cultivo y tejidos mediante gemación y, lo que es muy fundamental para su clasificación, sólo forma blastoesporos asexuales. Crece en todos los medios de cultivo corrientes de laboratorio, como una colonia muy semejante a las bacterias, tanto a la temperatura de la habitación como a 37°C.

En medios especiales de cultivo, por sus particulares condiciones de desarrollo y su capacidad de disociación sacarolítica, puede distinguirse de los demás hongos micéticos, sin necesidad de hacer cultivos posteriores, investigación ó frotis.

Es una habitante normal de la boca, conducto gastrointestinal y vagina en el 20 por % aprox. de las personas sanas. En algunas enfermedades no micóticas aparece en forma apilada.

El *candida albicans* es el germen patógeno de infecciones bucales (muguet), vaginales, de la piel, -- uñas y diversos órganos (pulmones), donde se ha comprobado su existencia, e incluso de infecciones generalizadas, habiendo sido hallado en el pulmón, hígado, bra-

zo, ganglios linfáticos etc.

El muguet tiene lugar con mayor frecuencia - en los niños que en las personas adultas, surgiendo generalmente a causa de otra enfermedad agotadora. Formas crónicas, que pueden subsistir durante muchos años, son extremadamente resistentes a la terapéutica. A veces pueden propagarse desde la boca a la piel, conducto respiratorio ó gastrointestinal, acabando en una infección general, que casi siempre es mortal. Las lesiones de la mucosa bucal son por lo general puntiformes y de color blanco, pero también pueden ser lisas y con tener hifas (seudomiceto) y yemas de los hongos. Es fácil la comprobación del microorganismo micético si se toma materia de los lugares afectados y, sin colorear, se coloca para su observación en un portaobjetos ó bien coloreados, según Gram. Hallamos entonces brotes celulares grampositivos, de forma ovalada de aproximadamente 2,5 a 5 micras de tamaño y en ocasiones hifafragmentos de doble o triple longitud.

A la familia ESPIROQUETA. - Pertenecen dos géneros, que comprenden microorganismos gramnegativos de forma helicoidal, los cuales, no poseen un flajelo bien definido, pero si tienen un movimiento muy activo girando alrededor de su eje a manera de un sacacorchos, pudiendo abrirse paso tanto en los líquidos como en los tejidos.

Los incluidos en el género espiroqueta son genuinos saprofitos.

En cambio los del género treponema tienen un importante papel como gérmenes patógenos de enfermedades infecciosas, máxime considerando que algunas especies, de cuya importancia poco sabemos, aparecen

con gran frecuencia en la cavidad bucal dando lugar a -
confusiones de graves consecuencias.

Al género treponema pertenecen;

- a). - el treponema pálido
- b). - treponema Pertenui
- c). - treponema carateum.

El treponema pálido, germen patógeno de la -
sífilis, con sus múltiples formas de aparición y lesio-
nes, que se localizan con gran frecuencia en la cavidad
bucal. En cambio de los otros dos treponemas sólo di-
remos que pueden distinguirse morfológicamente de las
espiroquetas sífilíticas y que las enfermedades produci-
das por ellas, como la frambuesia y el pian, son impor-
tantes enfermedades tropicales que pueden presentar al-
guna semejanzas con la sífilis.

En la cavidad bucal encontramos normalmente
infinidad de clases de espiroquetas distintas, la mayo-
ría de las cuales pertenecen al género treponema. Una
de las más importantes cuya acción patógena facultativa
ha quedado demostrada es la Borelia de Vicent, que per-
tenece al género de Borrelia. Estos tenues microorga-
nismos de 5 a 10 micras de largo, de circunvoluciones
planas e irregulares, aparecen en gran número en las -
lesiones tisulares de las enfermedades fusoespirilares -
(angina de vicent), estomatitis ulceros, etc.

Es difícil la diferenciación y clasificación de -
las espiroquetas procedentes de la cavidad bucal, la ma-
yoría de las espiroquetas son necesariamente anaero- -
bias y faltan generalmente en la boca de los lactantes -
y de los ancianos.

En la boca del adulto suele multiplicarse extraordinariamente cuando existe una excesiva formación de sarro dental, irritaciones de la encía y piorrea alveolar. Hasta el momento no se ha aclarado si tiene y en que grado importancia patógena.

Es muy difícil enumerar la totalidad de elementos microbianos de la cavidad bucal. Una parte de ellos se encuentra suspendidos en la saliva y pueden ser contados. La mayoría están presentes en los dentritos que se adhieren a los dientes, al dorso de la lengua y al surco gingival. Este último es un medio ideal para el desarrollo de la más variada flora microbiana. Las formas anaerobias son las que predominan en estos sitios.

Generalmente, aunque no siempre, los microorganismos salivales reflejan de manera correcta las variaciones en número y tipo de la flora microbiana bucal. La cuenta celular de la saliva varía mucho de un individuo a otro, y depende de la edad, estado general de salud, dieta y hábitos bucales. La población microbiana tiende a aumentar mientras hay dientes en la boca. Es menor en la salud que en la enfermedad, y tienden a aumentar notablemente en condiciones de poca higiene. Los colutorios, ya sea con agua simple ó antisépticos, y la ingestión de alimentos disminuyen su número temporalmente. El uso de cepillo es más eficaz que ingerir alimentos fibrosos.

La división de la población microbiana según sus tipos es muy variable. La verdaderas bacterias son más numerosas que los protozoarios, hongos, espiroquetas, actinomicas y virus. Los cocos gran positivos y los bacilos están en mayor proporción que cualquiera de las demás formas.

Pese a la gran cantidad y amplias fluctuaciones de los microorganismos presentes en la boca, la influencia reciproca entre la flora microbiana y los tejidos humanos no es dañina al huésped. La presencia de microorganismos solo es nociva cuando se modifica mucho el equilibrio de la flora ó el terreno de acción; esto es; la mucosa se altera notablemente.

Algunos agentes patógenos pueden establecerse en la boca e invadir sus tejidos no importa cual sea el estado anterior de la flora ó el huésped. Estos patógenos en potencia, habitantes normales de la cavidad bucal en pequeño número, pueden aumentar y desplazar a otros microorganismos cuando el medio bucal sufre ciertos cambios. La administración bucal ó tópica de ciertos antibióticos puede suprimir a los cocos grampositivos y bacilos, que generalmente mantiene en jaque a los hongos. Entonces, *Candida Albicans* tiende a crecer y se inicia un estado patológico (moniliasis ó algodoncillo).

Los microorganismos de la flora bucal normal pueden invadir los tejidos a través de una herida. Se cree que algunos organismos sólo penetran en los tejidos cuando existen estas soluciones de continuidad.

Finalmente, en ocasiones el factor desencadenante es una alteración ligera de los tejidos del huésped que los hace vulnerables a la acción de los productos metabólicos de la flora normal; ó a la invasión de los microorganismos. Una inflamación preexistente, los traumatismos, la intoxicación medicamentosa (bismuto, mercurio y dilantin) y las enfermedades infecciosas pueden favorecer el progreso de las lesiones. Deben tenerse en cuenta factores de condicionamiento tisular, como las nutriciones hormonales e influencias emocionales que actúan sobre el huésped y sus tejidos, otros facto-

res son la raza, edad, sexo, clima, estación, y estado de salud general.

TEMA II. - SALIVA.

Dentro de la ecología bucal, juega un papel muy importante la saliva, pues en todos los procesos de enfermedades bucales, se relaciona sea directa ó indirectamente.

Constituyentes Inorgánicos de la saliva. - Por exposición al aire, actividad bacteriana y reacciones enzimáticas, la saliva cambia por el reposo y el almacenamiento, entre el momento en que fué recogida y el del análisis.

Por ello, los intervalos de valores dados han de considerarse como una guía y no interpretarse rigurosamente como valores normales.

Un litro de saliva humana consta de 994 g de agua, 1 g de sólidos en suspensión y 5 g de sustancias disueltas de las cuales 2 g son de materia inorgánica y 3 g de materia orgánica.

Los sólidos en suspensión son células exfoliadas del epitelio, leucocitos desintegrados, bacterias bucales, levaduras y unos cuantos protozoos.

La densidad de la saliva varía de 1.002 a 1.020 y el descenso del punto de congelación varía de -0.2° a -0.7° centígrados.

Los Iones sodio y potasio son los constituyentes inorgánicos más abundantes en la saliva. Las concentraciones de Ion sodio y Ion cloruro aumentan con la velocidad del flujo salival.

La concentración de Iones potasio se mantie--

nen relativamente constante cualquiera que sea la velocidad de flujo. La comparación entre las concentraciones de sodio y potasio en la saliva, con sus valores en la sangre, es interesante. El Sodio está en concentración 10 tantos mayor en el suero sanguíneo que en la saliva, la concentración de potasio en la saliva es aproximadamente un tercio de la concentración en el suero, y la concentración de cloruro en la saliva es cerca de un séptimo de la del plasma sanguíneo.

Se ha demostrado experimentalmente que Esteroides como desoxicorticosterona y hormona Adrenocorticotrópica producen disminución en los niveles de sodio y cloruro y aumento en la concentración de potasio.

La presencia de Iones fosfato y calcio en la saliva es un factor importante en el mantenimiento de una solubilidad baja del esmalte de los dientes.

Algunas personas secretan lentamente saliva no estimulada, mientras otras las secretan rápidamente. Esto demuestra la dificultad de evaluar a que concentración un constituyente dado de la saliva es óptimamente protector ó es óptimamente destructor en la condición que se estudia.

Se ha demostrado que la concentración de calcio y fósforo es más alta en los individuos que secretan lentamente saliva, los que la secretan rápidamente tiene mayor gasto por hora de ambos Iones. La saliva estimulada por parafina tiene menor concentración de estos dos Iones que la saliva en reposo.

El fosfato inorgánico representa el 90 por 100 de P total: el resto ocurre como hexosafosfatos, fosfolípidos, nucleoproteínas y ácidos nucleicos.

COMPOSICION INORGANICA DE SALIVA ESTIMULADA -
Y NO ESTIMULADA mg por lt.

Constituyente inorg.	Saliva no estimulada	Saliva estimulada
sodio	14.8 (6.5-21.7)	44.6 (43.0-46.1)
potasio.....	22.1 (19.0-23.3)	18.3 (17.9-18.7)
calcio.....	3.1 (2.3-5.5)	2.8 (1.8-4.6)
magnesio.....	0.6 (0.16-1.06)	
Cobre.....	_____	256 (00-470)
cobalto.....	_____	24 (0-125)
cloruro.....	10	43
a) fósforo.....	193	_____
b) fósforo.....	149 (74-211)	_____
g) fósforo.....	_____ (0.5-2.0)	_____
Azufre.....	76	_____
Floruro.....	_____	(0.1-0.2)
Bromuro.....	_____	(1-7)
Yoduro.....	(0-3.5)	(0.2-3.5)
Tiocianato.....	(26-270)	_____
Hierro.....	_____	(0.1-0.56)
Porfiriana.....	_____	1.7
Fenol.....	_____	(0.280.37)
Oxígeno.....	10	_____
Nitrógeno.....	25	(4.8-27.8)
Bióxido de carbono	150 (82-253)	(190-500)

El Tiocianato se usa en el tratamiento de la presión -
sanguínea alta.

Es secretado pasivamente por las glándulas -
salivales y puede desempeñar un papel como agente an-
tibacteriano.

No se ha hallado ninguna correlación entre es-
ta substancia y la caries.

Las pequeñas cantidades de hierro en la saliva pueden contribuir al tono ligeramente pardo de los dientes, debido a la liberación de hemosiderina procedente de la destrucción de eritrocitos.

La saliva contiene cantidades variables de O_2 , N_2 y CO_2 . Los cambios en la concentración de CO_2 están estrechamente relacionados con desplazamientos en el sistema de Bicarbonato y por cambios en la capacidad amortiguadora de la saliva.

CONSTITUYENTES ORGANICOS DE LA SALIVA.

En la literatura más reciente se ha informado de resultados muy diversos obtenidos por electroforesis, inmunolectroforesis, varios métodos cromatográficos, ultracentrifugación y ultrafiltración.

Se han efectuado análisis sobre fracciones aisladas de saliva dializada y sin dializar, de fracciones de saliva obtenidas por centrifugación, de precipitados espontáneos, de precipitados obtenidos por adición de sustancias químicas ó de fracciones solubles en agua, en ácidos o en medios alcalinos.

El análisis de la saliva es técnicamente más difícil a causa de su contenido de mucina. A base de la naturaleza y cantidades de la mitad de carbohidratos, se han propuesto nombres más descriptivos; mucopolisacáridos, mucoides, glucoproteínas, mucoproteínas y glucolipoproteínas.

Se le llama Mucina a una solución viscosa, mucóide a una sustancia que contiene mucopolisacárido en una unión química firme con un péptido. La mitad de mucopolisacárido está compuesta de hexosas, hexosa

mina (acetilada en el grupo amino) y ácidos urónicos.

El ácido cítrico ha demostrado mucho interés a causa de su posible papel como substancia solubilizante de calcio y como factor en la erosión de los dientes.

En condiciones normales hay poca substancia reductora en forma de glucosa en la saliva. La mitad-carbohidrato de la substancia mucóide en la saliva consiste de más de un conjugado de proteína y carbohidrato; d-manosa, d-galactosa, ácido hexurónico y n-acetilaminoácido son los constituyentes principales.

La hidrólisis de substancias mucóides es rápida. La saliva pierde mucha de su viscosidad por reposo. Se cree que esto se produce por la acción de mucinasa o por bacterias mucolíticas.

La precipitación de substancias mucóides sobre superficies de los dientes es de importancia en estudios de placa dental y de formación de cálculos.

El punto isoeléctrico de los mucóides es - - aproximadamente 3.5 y se necesita acidez por debajo de pH 5.0 para la precipitación.

El contenido de nitrógeno es más alto en la saliva no estimulada que en la estimulada. La estimulación prolongada reduce considerablemente la concentración.

La rápida descomposición de mucóides y urea conduce a la liberación de amoníaco. Como resultado de ello, la concentración de nitrógeno del líquido sobrenadante de saliva centrifugada es casi tres tantos más alta que la del sedimento.

COMPOSICION ORGANICA DE LA SALIVA ESTIMULADA
Y NO ESTIMULADA mg por lt.

Constituyentes org.	Saliva no estimulada	Saliva estimu- lada.
Glucosa.....	200 (110-300)	200 (140-300)
Citrato.....	_____	100 (20-300)
Lactato.....	_____	_____ (10-50)
Colesterol.....	80 (25-500)	_____
Amoniaco.....	(10-250)	60 (10-120)
Creatina.....	10 (5-20)	_____
Urea.....	200 (140-750)	(0.140)
Acido úrico.....	15 (5-29)	30 (10-210)
Colina.....	(6.2-36.+)	(4.7-14.4)
Histamina.....	(0.16-0.50)	_____
Glutación.....	154	_____
Nitrogeno total.....	(444-990)	(259-750)
Nitrogeno proteínico	(340-2 270)	_____
Nitrógeno no proteíni- co.....	(60-560)	(223-882)
Mucoides.....	_____	270 (80-600)
a - Globulina.....	33.3	_____
b - Glubulina.....	129.9	_____
y - Globulina.....	55.5	_____
Lisozimas.....	54.3	_____
Albúmina.....	22.8	_____
Acido siálico.....	50.4	_____
Hexosa.....	415.8	_____
fucosa.....	142.5	_____
Glucosamina.....	130.68	_____
Galactosamina.....	22.86	_____

Se halló que la fracción dializable aumentaba en cantidad por almacenamiento de muestras de secre--

ción sub-maxilar. Por adición de cianuro potásico, y en friamiento simultáneo de las muestras, podía detenerse el aumento de rendimiento de carbohidratos.

Se llegó a la conclusión de que los carbohidratos no enlazados derivan en parte de la descomposición enzimática de las glucoproteínas sub-maxilares. La descomposición de saliva de la Parótida consiste en albúmina de suero, globulinas a y b, amilasa, ácido siálico, hexosas, fucosa, glucosamina y galactosamina.

Se ha mostrado que la saliva de la parótida contiene indicios de sustancias que son, a pesar de sus bajas concentraciones excelentes antígenos intrínsecos.

AMINOACIDOS IDENTIFICADOS. EN SALIVA ESTIMULADA Y NO ESTIMULADA mg por lt.

Constituyentes Aminoácidos.	Saliva no estimulada	Saliva estimu- lada.
Alanina.....	12 (5-29)	
Arginina.....		(33-100)
Acido aspártico...	1.5 (1.3-3.3)	
Cistina.....		(1.6-4.5)
Acido glutámico...	12 (5-13)	
Glicina.....	14 (5-36)	
Histidina.....		(3.5-20)
Isoleucina.....		(2-9)
Leucina.....		(0.2-3)
Lisina.....	7.7 (1.5-15)	
Metionina.....		(0.05-0.1)
Fenilalanina.....		(6-25)
Prolina.....		(3.5-15)
Serina.....	6.6 (3.3-12)	
Treonina.....		(4-56)
Tirosina.....		(2-10)

Triptófano.....	_____	0.14 (0-2.1)
Valina.....	_____	_____ (7-22)

Vitaminas. -

VITAMINAS HALLADAS EN SALIVA ESTIMULADA Y NO ESTIMULADA (por lt)

Vitaminas	Saliva no Estimulada	Saliva Estimulada
Vitamina C (mg)....	_____ (0.0-4.0)	_____
Vitamina A (mg)....	_____	_____
Vitamina K (μ g).....	15	_____
Niacina (μ g).....	30	115 (23-409)
Tiamina (μ g).....	7	_____ (2-14)
Riboflavina (μ g).....	50	_____
Piridoxina (μ g).....	600	6 (1-17)
Acido pantoténico(μ g)	80	88 (12-190)
Acido fólico (μ g)....	0.1	24 (3-75)
Biorina (μ g).....	0.8	_____ (0.1-0.26)
Eritrotina B (μ g)....	_____	_____ (0.02-0.40)

Parece que la saliva contiene una sustancia - no identificada que inactiva la Vitamina A. La concentración de Vitamina C es algo menor que en la sangre - y se afecta poco por la ingestión bucal de ácido ascórbico.

La Apoeriteina es una proteína que forma un complejo con Vitamina B. En esta forma combinada resiste la influencia destructiva de la digestión que inactivaría la Vitamina B libre. El complejo se llama Eriteina y en él la Vitamina B es Eritrotina o el factor extrínseco y Apoeriteina es el factor intrínseco.

La Apoeriteina está presente en la saliva en concentración de 55 miliunidades por ml, aproximadamente.

Beerstecher ha determinado las propiedades de estabilidad térmica de la Apoeriteina en la saliva y ha hallado también una substancia de alto peso molecular, Sapisina, que puede inactivar Apoeriteina en la saliva.

SUBSTANCIAS ESPECIFICAS DE GRUPOS'

Los aglutinógenos A, B y O ocurren en la saliva del 80 por 100 de la población. Los factores M, N⁻ y Rh no se encuentran presentes en la saliva. Las substancias específicas de grupos han sido descubiertas en el moco de saliva y corresponden a complejos polisacárido-aminoácido, que contienen d-glucosamina, d-manosa, d-galactofosa y I-fucosa.

ENZIMAS SALIVALES.

Entre las enzimas, se estima que la amilasa representa alrededor del 12 por 100 de la cantidad total de materia orgánica en la saliva. Es una combinación de dos enzimas, Amilasa a y Amilasa b.

La Amilasa a, hidroliza dextrinas y hace descender la viscosidad de geles de almidón.

La Amilasa b, Descompone las moléculas mayores en fracciones menores, primeramente en Maltosa.

La amilasa deriva principalmente de la glándula parótida. Es la única enzima salival que desempeña una papel importante en la digestión.

En todas las fracciones de saliva se encuentra actividad de fosfatasa alcalina. La fosfatasa ácida procede principalmente de restos celulares y, en menor medida, de microorganismo.

Se ha identificado fosfatasa ácida en pequeñas cantidades en saliva glandular pura.

Las aliesterasas hidrolizan ésteres de ácidos-grasos de cadena corta. Las lipasas atacan glicéridos de ácidos grasos de cadena larga. Unas y otras pueden desdoblar ésteres de tamaño intermedio.

Se ha postulado que condrosulfatasa y arilsulfatasa pueden atacar las glucoproteínas sulfatadas presentes en dentina y esmalte no desmineralizados y de este modo contribuir a la formación de caries dental. La actividad de las enzimas proteolíticas se debe a bacterias, leucocitos y células epiteliales en suspensiones salivales. Hartles y Wasdell hallaron que ciertos microorganismos salivales poseen una beta-fructofuranosidasa intracelular, que estaba ausente de secreciones salivales.

Sreebny y Angle hallaron una enzima del tipo de colagenasa en la fracción dializada de saliva completamente estimulada.

En la saliva puede haber varias enzimas que poseen propiedades mucolíticas.

La actividad de mucinasa reduce la viscosidad de la saliva. El mucoide es hidrolizado con la liberación del carbohidrato. De la investigación de enzimas salivales han surgido algunos hilos prometedores que merecen ser considerados en trabajos futuros, por

ejemplo se ha hallado que la concentración de Lisozima salival es ocho tantos mayor que en el suero sanguíneo. Esta enzima podría ser el origen glandular o proceder de restos leucocíticos salivales.

La hialuronidasa parecen ser exclusivamente de origen microbiano. Se halló que sus niveles se elevan en presencia de enfermedad periodontal.

Las enzimas condrosulfatasa y arilsulfatasa podrían desempeñar un papel en la enfermedad periodontal, al igual que en el proceso de caries. Se ha demostrado que estas enzimas son producidas por microorganismos aislados de lesiones de caries y que pueden atacar glucoproteínas sulfatadas de sustancia dental no desmineralizada.

Tiene particular interés la teoría de Lisanti, Chauncy, Roveltstadt y otros, quienes dicen que proteasas salivales, con la posible ayuda de hialuronidasa, pueden penetrar a través del epitelio bucal y causar lisis de las fibras de colágeno y de la sustancia fundamental del tejido conectivo subyacente, de ello resultaría que los tejidos bucales se volverían susceptibles a invasión bacteriana.

Esta teoría fué apoyada por Lazarus, quien mostró la presencia de colagenasa en la fracción granular de Leucocitos polimorfonucleados humanos.

ENZIMAS HALLADAS EN SALIVA PROCEDENTE DE --
DIFERENTES FUENTES (X indica presencia).

ENZIMAS	Glándulas	Micro- organismos.	Leucocitos.
<u>CARBOHIDRATASAS</u>			
Amilasa.....	X	0	0
Maltasa.....	0	X	X
Invertasa.....	0	X	0
Beta-glucuronidasa.....	X	X	X
Beta-D-galactosidasa.....	0	X	X
Beta-D-glucosidasa.....	0	X	0
Lisozima.....	X	0	X
Hialuronidasa.....	0	X	0
Mucinasa.....	0	X	0
<u>ESTERASAS</u>			
Fosfatasa ácida.....	X	X	X
Fosfatasa alcalina.....	X	X	X
Hexosadifosfatasa.....	0	X	0
Aliesterasa.....	X	X	X
Lipasa.....	X	X	X
Acetilcolinesterasa.....	X	0	X
Seudocolinesterasa.....	X	X	X
Condrosulfatasa.....	0	X	0
Arilsulfatasa.....	0	X	0
<u>ENZIMAS DE TRANSFERENCIA</u>			
Catalasa.....	0	X	0
Peroxidasa.....	X	0	X
Feniloxidasa.....	0	X	0
Deshidrogenasa succínica..	X	X	X
Hexocinasa.....	0	X	X

ENZIMAS PROTEOLITICAS

Proteinasa.....	0	X	X
Peptidasa.....	0	X	X
Ureasa.....	0	X	0

OTRAS ENZIMAS

Anhidrasa carbónica.....	X	0	0
Pirofosfatasa.....	0	X	0
Aldolasa.....	X	X	X

CONCENTRACION DE ION HIDROGENO.

El pH de la saliva en todas formas en que puede recogerse ha sido estudiado en relación con el sexo, la edad, efecto de estimulación, velocidad de secreción, clases de alimentos y bebidas y estado de salud general. Se ha invertido mucho esfuerzo para hallar una correlación entre el pH y la destrucción de los dientes. Hasta la fecha no se ha llegado a ninguna conclusión.

El pH de la saliva no estimulada varía de 5.6 a 7.6, con un valor medio de 6.7 aproximadamente. En los niños el valor medio es aproximadamente 0.1 de undad más alto.

El pH de la saliva estimulada varía de 7.2 a 7.6.

La saliva tiene señalada capacidad amortiguadora en la región de pH 7.0 debido a la presencia de iones bicarbonato y fosfato. En capacidad amortiguadora, la saliva estimulada supera a la no estimulada, al igual que en la concentración de sodio y potasio.

La secreción de la glándula submaxilar, con

su mayor contenido de proteínas, tiene una capacidad - amortiguadora alta alrededor de pH 5,0 ó más bajo. Lo mismo es cierto para el sarro dental, pues el sarro tiene alto contenido de mucoides. La saliva de la parótida, pura, es más ácida, con un intervalo de pH de 5.5 a 6.0.

En general, se está de acuerdo en que la saliva se vuelve más ácida durante el sueño.

Los valores de pH intrabucales varían de un área a la siguiente al igual que en la misma región.

BACTERIAS.

Las bacterias en las saliva y en depósitos de la superficie bucal han sido el punto central de interés - desde que Miller publicó su teoría quimicoparasítica de la etiología de la caries en 1892.

En general, todavía se acepta la teoría de Miller, no obstante todas las objeciones que pueden hacerse. La aceptación de la teoría hace de la caries una enfermedad infecciosa con todas sus consecuencias.

De la cavidad bucal se han aislado muchos microorganismos que son bioquímicamente activos en su fermentación de carbohidratos, entre ellos almidón, y en la producción de enzimas proteolíticas.

La búsqueda de bacterias productoras de ácidos ha sido extensa. Entre los mejores productores de ácidos figuran Estreptococos, lactobacilos, cladotrix, bacterias fusiformes y anaerobias. Aunque por si mismos son buenos productores de ácido, se ha hallado que los lactobacilos inhiben hasta cierto punto grado la

producción de ácidos por otros microorganismos, particularmente de los estreptococos.

Sin embargo, se ha hallado que los lactobacilos se encuentran en número estadísticamente importante en relación con la frecuencia de caries, pero cuanto más se persigue la elucidación de este fenómeno tanto menos convincentes se vuelven las pruebas.

Se cree que la presencia de bacterias acidúricas bucales no es el único factor en la destrucción de los dientes. Se han obtenido tipos igualmente acidógenos de individuos inmunes a la caries que de individuos con caries activa.

Se ha investigado el sarro dental por separado de superficies de dientes sin caries, de las paredes de cavidades abiertas de los espacios interproximales, de superficies cuidadosamente preservadas de secciones fundamentales, de personas inmunes a la caries, de cavidades que muestran lenta velocidad de destrucción y, naturalmente, de las que se destruyen rápidamente.

En los sarros de áreas de caries siempre hay presente una barra corta, ó cocobacilo, llamado por Bunting, *B. Acidophilus*.

Bunting observó su ausencia en sarro exento de caries. Se ha prestado mucha atención a los microorganismos que pueden producir un polisacárido mucinoso cuando se transfieren a agar con sacarosa-triptosa. Los antibióticos inhiben su crecimiento.

Se mostró que los organismos productores de este polisacárido son *Str. mitis* y *Str. salivarius*.

Hay muchas formas filamentosas pleomórficas en la saliva y el sarro. Morfológicamente son semejantes a los actinomicetos y podrían ser idénticas a *Leptothrix*, *Streptothrix*, *Cladothrix* ó *Leptotrichiae*, términos hoy en desuso. Figuran entre los mejores productores de ácidos. Sus filamentos forman una rejilla irregular que sirve de armazón en la cual viven otros microorganismos.

También se ha hallado que pueden producir un pigmento de color pardo amarillento, así como otras especies.

La distribución cuantitativa de microorganismos en sarro ó saliva no ha sido establecida por que no se ha adoptado un método de rutina para la recolección y tratamiento de la muestra. Esta falta de estandarización ha impedido la acumulación de datos bioquímicos.

TEMA III. - Placa Bacteriana.

FORMACION DE PLACA. - Algunos estudios - estudios han mostrado que los depósitos iniciales de la placa están libres de microorganismos, mientras que - otros estudios indican que los microorganismos se adhieren en forma tenaz al esmalte. Según una teoría de -- formación de placa, se deposita una capa inicial de proteína salival en la superficie del diente a la cual se -- adhiere los microorganismos de la saliva.

Las bacterias adheridas al depósito inicial, a los microorganismos presentes en las grietas u otros - defectos en el esmalte invaden esta capa. Por esta razón se dice que la formación de placa está dividida en - dos etapas; la primera, una etapa inicial que puede comprender la formación de un depósito no bacteriano, y -- una segunda etapa que comprende la fijación de las bacterias cuyo metabolismo puede modificar subsecuentemente el depósito de proteína de la saliva.

Una de las primeras teorías referente a la -- formación de la placa inicial fué que el ácido láctico - de las bacterias bucales presentes en la lengua y en -- los tejidos blandos de la boca favorecía la precipitación de la mucina de la saliva y que ésta mucina precipitada sufría desnaturalización por las enzimas bacterianas, -- deshidratación, inactivación de la superficie para formar una placa inicial firme.

Otra teoría acerca del mismo proceso dice -- que la neuraminidasa, una enzima de la saliva divide - la porción de ácido siálico de la proteína salival que -- contiene esta substancia y alterando así la solubilidad - de la proteína al aumentar su punto isoeléctrico y favorecer la precipitación bajo condiciones ligeras de ácido - ó hasta neutralizar.

Otros investigadores han mostrado que las proteínas de la saliva se encuentran en estado metabolizable, y como son coloidales, precipitan en forma lenta pero espontánea a partir de la saliva. Esta precipitación es función del pH y del tiempo; ocurre en forma lenta con pH neutral o alcalino y más rápidamente si descende el pH. En consecuencia, en el individuo que tiene flujo salival lento y pH salival ligeramente ácido, la precipitación puede ocurrir más fácilmente que en una persona con flujo salival más rápido y saliva más alcalina. La adsorción de proteína salival ne hidroxapatita y el agrupamiento de las bacterias de la placa también ocurre más fácilmente en pH ácido que en pH neutral o alcalino. El aumento de los microorganismos acidógenos favorecería el aumento de la acidez de la placa que a su vez facilitaría mayor formación de placa.

Esta sucesión de acontecimientos podrían explicar por qué los individuos cuyas bocas tienen mucha actividad de caries presentan mayor cantidad de microorganismos acidógenos y también más placa que los individuos libres de caries.

La formación de polisacárido extracelular por las bacterias que pueden participar en la formación de placa, facilita la adhesión de estas bacterias a la superficie de los dientes ó a una capa inicial de proteína; pero no existen datos que indiquen cómo y cuándo esto tiene lugar.

ALTERACIONES DE LA MICROFLORA DURANTE LA FORMACION DE PLACA.

Los grupos predominantes de microorganismos que aparecen primero durante la formación de placa son los micrococos y estreptococos. Las levaduras

Nocardia y Streptomyces también están presentes pero ninguno de ellos constituye más que una muy pequeña porción de la placa. Los filamentos micóticos son raros en esta etapa, pero ocurre después; también son muy raros los lactobacilos.

La placa madura, por otra parte, contiene una pequeña cantidad de detrito celular y orgánico, y consiste principalmente de microorganismos filamentosos gram positivos incluidos en una matriz amorfa. Los filamentos están dispuestos en forma de agrupación y se encuentran en situación paralela uno a otro en sentido perpendicular a la superficie del esmalte.

Cerca de la superficie del esmalte, los filamentos son menos regulares y en algunos casos tienen aspecto plano.

En la superficie de la placa se observan cocos, bacilos y ocasionalmente Leptothirix. Se ha dicho que algunas de las formas filamentosas son realmente estreptococos que han perdido su capacidad de división celular.

Los microorganismos de tipo Nocardia están limitados a las porciones más superficiales de la Placa.

Producción de base en la placa. Los microorganismos de la placa pueden producir amoniaco a partir de substratos nitrogenados, causando de esta manera que el pH de la placa se eleve. La urea, que es un producto final del metabolismo de las proteínas en el cuerpo es excretado en la saliva y se metaboliza aún más rápidamente que la glucosa por parte de las bacterias de la placa.

Los aminoácidos y proteínas de la saliva y de los tejidos blandos bucales sirven también como substratos, pero los microorganismos los desintegran muy lentamente. En gran medida la dieta provee el substrato para los microorganismos de la placa que producen ácido, mientras que la saliva y los detritos de los tejidos blandos bucales proveen el substrato para los microorganismos que producen base. Debido a estos deshechos existe un equilibrio delicado entre ellos y una alteración de este equilibrio favorecería la producción de ácido ó base y el pH en la placa. La misma placa, como resultado, puede producir un pH bajo y disolución del esmalte, un pH alto y depósito de calcio y fosfato de la saliva, y su acumulación en la placa forma sarro.

FACTORES QUE FAVORECEN LOS NIVELES BAJOS DE pH EN LA PLACA.

La velocidad del flujo salival, la forma de los dientes, y las propiedades de los carbohidratos alimenticios (por ejemplo adhesividad) que favorecen la retención intrabucal, son factores que pueden, solos ó en combinación afectar el tiempo en que los carbohidratos de la dieta permanecieran en la boca después de haber sido ingeridos. Si el tiempo aumenta, aumentará también el tiempo de producción de ácido por las bacterias de la placa.

Cuando se ingieren carbohidratos fermentables, las células de la placa responden produciendo ácido, mientras que las glándulas salivales responden produciendo mayor cantidad de saliva. La mayor rapidez del flujo salival acelera la movilización del carbohidrato de la boca y la eliminación de ácido de la placa, produciendo saliva fresca rápidamente, que acelera la

difusión del ácido fuera de la placa, y al proveer amortiguadores realiza la neutralización del ácido en la placa.

La eliminación del ácido de la placa por cualquiera de estos mecanismos favorece la disminución del descenso del pH de la placa y aumenta la frecuencia, ó mejor dicho, la velocidad, a la cual el pH vuelve a su nivel inicial.

Por las mismas razones, el flujo lento de la saliva favorece los niveles bajos de pH y la permanencia de este pH por períodos largos.

Si la forma de los dientes ó las propiedades físicas de los carbohidratos ingeridos prolongan el tiempo de disponibilidad del substrato a las bacterias de la placa, se favorecerá también el mantenimiento de un pH bajo en la placa. Por ejemplo cuando se retiene un pedazo de pan en los dientes, el pH desciende ahí mismo y permanece así durante todo el tiempo que el pan esté retenido. Una vez que se ha desplazado el pan, el pH aumenta lentamente. Los azúcares, por otra parte, que son solubles, son eliminados más rápidamente por la saliva que los almidones pero, debido a que aumentan el nivel inicial de azúcar en la saliva hasta un nivel muy alto, lleva casi el mismo tiempo para eliminar la saliva de la boca que para el pan.

Los microorganismos de la placa también pueden prolongar el tiempo en que el pH de la placa está por debajo de la línea de base, por, la síntesis de polisacárido celular, mientras que el carbohidrato de la dieta está presente en la boca.

Subsecuentemente se forma ácido a partir de -

este carbohidrato almacenado cuando ya no existe carbohidrato de la dieta.

En los últimos años ha habido considerable interés en las síntesis de los polisacáridos intracelulares y extracelulares.

Aunque se han empleado varios sistemas experimentales (cultivos puros de microorganismos aislados de la placa dental; placa intacta in situ e in vitro; y -- los microorganismos obtenidos de la boca por masticación de cera, a los que se ha determinado se dimento -- salival) estas reservas para formar ácido han sido demostrado.

Los experimentos en seres humanos han mostrado que el número de polisacáridos intracelulares que almacenan microorganismos en la microflora de la placa disminuye considerablemente cuando se restringe el carbohidrato de la dieta y subsecuentemente aumenta -- cuando se elimina la restricción.

En un estudio realizado en monos, se mostró -- que la síntesis de carbohidrato extracelular por los estreptococos respondía similarmente a la variación en el carbohidrato de la dieta.

El carbohidrato extracelular puede participar -- en el mantenimiento de niveles bajos de pH en la placa, y también en la formación de la placa.

pH EN LA PLACA EN DIFERENTES LOCALIZACIONES DE LA DENTACION, Y SU RELACION EN LA ACTIVIDAD DE CARIES.

El menor pH alcanzado durante una curva de Stephan, el pH mínimo es generalmente más bajo en las

placas de individuos con caries activa que en las que --
muestran actividad baja de caries.

Además, las placas en las superficies labia--
les de los dientes del maxilar anterior muestran un pH
más bajo que las placas de las superficies correspon--
dientes de los dientes en la mandíbula, relación que es
consistente con las susceptibilidades relativas a caries --
de estas áreas.

El pH de las lesiones de caries es aproxima--
damente de 0.7 unidades de pH más bajo que en las pla--
cas de superficies sin caries. Si la abertura de una --
lesión de caries es estrecha, el pH en la cavidad será--
más bajo que si la abertura de la cavidad es amplia y--
accesible a la saliva.

Estudios extensos de sujetos, antes y después
de haber comido, han mostrado que las placas localiza--
das en diferentes áreas de la dentición (las áreas de --
los espacios interproximales y las superficies adyacentes
a las encías) muestran una curva de pH aproximadamen--
te igual que la curva típica de Stephan, excepto que la --
curva se extiende sobre un mayor período.

El pH de la placa es mayor antes del desayu--
no y es casi invariablemente más alto que el de la sali--
va. En este momento la producción de base en la pla--
ca sobrepasa la producción de ácido y es mayor en pla--
cas de las regiones anteriores de la mandíbula y meno--
res en las placas correspondientes en el maxilar.

Las placas de las áreas de la boca que se en--
juagan fácilmente con saliva muestran niveles mayores --
de pH y la mayor diferencia de pH en relación a la sali--
va.

Tan pronto como se ingieren los alimentos, el pH desciende en las placas localizadas en todas las áreas de la boca y alcanza un mínimo que es más bajo en las áreas que muestran el pH menor al comienzo. También todos los niveles son menores que el pH de la saliva.

La diferencia entre el pH en ayunas y el pH mínimo, usualmente referida como índice del pH de la placa es mayor para las placas interproximales que para las placas interproximales que para las labiales y bucales, pues la placa es más gruesa en las regiones interproximales.

La razón dada para esto, es que la placa más gruesa contiene más microorganismos que la placa delgada, lo que la capacita para producir no solamente más base y un pH de ayuno más elevado, sino que también más ácido y un pH mínimo más bajo. Las placas situadas en las superficies labiales e interproximales de las regiones anteriores del maxilar y mandibular muestran las mayores diferencias. Esto semeja la amplia diferencia en la frecuencia de caries en estas dos regiones de la boca.

FACTORES BACTERIANOS QUE REGULAN LA FORMA Y EL pH MINIMO DE LA CURVA DE STEPHAN.

Para tratar de determinar los factores bacterianos que producen la forma de la curva del pH de la curva de Stephan y para explicar el diferente pH mínimo en las placas localizadas en diferentes áreas de la misma boca y en áreas correspondientes de diferentes bocas, se han efectuado experimentos en los cuales se han incubado cultivos puros de microorganismos aislados de la placa dental, solos y en combinación con un

medio amortiguador artificial ideado para simular las - propiedades iónicas y amortiguadoras de la saliva.

Cuando existían microorganismos en alta con - centración y se añadió glucosa en baja concentración, el pH descendió rápidamente y después ascendió lentamen - te, mostrando así curvas de pH similares a la curva de Stephan.

La mayor parte de los microorganismos, pero no todos, mostraron curvas de Stephan que tenían for - ma diferente. Los microorganismos que no muestran - esas curvas no mostraron curva alguna ó bien una en - la cual el pH descendió en forma recta y no se elevó - - después. Con los niveles más altos de glucosa y el - - substrato en exceso, el pH descendió y permaneció ba - jo durante el experimento, una situación muy parecida - a la que se observa en la placa in situ cuando había - exceso de carbohidrato.

Cuando los microorganismos estaban combina - dos y con producción y eliminación de ácido de cada mi - croorganismos, por ejemplo, los estreptococos evitaron que los lactobacilos alcanzaran un pH tan bajo como - - existe cuando se presenta solos. Otros experimentos - han mostrado que el ácido láctico producido por los - - estreptococos se puede convertir rápidamente por *Vei - llonella* en ácido propionico y acético más débil con - - bióxido de carbono, lo que sugiere que los dos microor - ganismos actúan como si estuvieran en una sola unidad - metabólica. Con base a experimentos como éstos es - - razonable pensar que no se puede predecir la forma en - que un microorganismo que es cariogénico solo, como - en los experimentos en los animales libres de gérme - nes, se comportarán cuando se combine con los micro - organismos que constituye la microflora de la placa den - tal.

En condiciones de substrato limitado, por ejemplo cuando existe exceso de saliva como en las superficies lisas de los dientes, solo aquellos microorganismos que pueden formar rápidamente y mantener niveles de pH bajo en la placa serán capaces de producir caries. Esta situación apoyaría la idea de que existe especificidad para la enfermedad. Por otra parte, en condiciones que favorecen la disponibilidad de substrato por períodos largos como en fisuras y en superficies proximales, muchos de los microorganismos en la boca serían cariogénicos y podrían complementarse uno con otro en la formación del ácido necesario para alcanzar el pH crítico para la disolución del esmalte. Por lo tanto, parecería que las condiciones que favorecen la mayor disponibilidad de carbohidratos fermentables disminuye la posibilidad de que exista una especificidad en los microorganismos causales de la enfermedad.

DESINTEGRACION POR LAS BACTERIAS E INVASION DE LOS TEJIDOS DENTALES DUROS.

Una vez que se destruye el esmalte, los microorganismos penetran al interior de las fibras de esmalte individuales y en los espacios entre las fibras de la matriz del esmalte. La penetración es mayor en la región del núcleo del esmalte que en la región de la matriz entre las fibras de esmalte.

En áreas de mayor penetración los microorganismos son más escasos en comparación con las áreas más cercanas a la superficie del esmalte. Los microorganismos en el borde de la lesión de caries son esféricos, y grampositivos. mientras que la morfología de los que están en la porción restante de la región es heterogénea.

Los microorganismos esféricos son reemplazados por bacterias filamentosas grampositivas y gramnegativas según continúa la destrucción del esmalte.

La invasión inicial de la dentina ocurre a través de las fibrillas odontoblásticas, después de lo cual hay descalcificación y reblandecimiento de los túbulos. Al avanzar la invasión y producción de ácido se produce descalcificación de la dentina intertubular.

Las capas más profundas de la lesión activa en la dentina casi siempre son estériles, y hasta que la lesión de caries ha alcanzado una fase tardía las bacterias entran a la pulpa dental.

LOCALIZACION DEL ACIDO Y DESCENSO DEL pH EN LA PLACA.

Para que se produzca la caries, el ácido formado por la desintegración de los carbohidratos mediante las bacterias en la placa dental debe disolver el esmalte de los dientes antes de que el flujo constante de saliva pueda lavar el ácido. Dos propiedades de la placa permiten que esto suceda; primero, la placa contiene una alta concentración de bacterias, que permite la producción de grandes cantidades de ácido un período corto de tiempo; segundo la difusión de materiales a través de la matriz es comparativamente lenta de tal manera que los ácidos formados en la placa requieren un período mayor para difundirse en la saliva. Debido a que la velocidad con la cual se produce el ácido es mayor que la velocidad a que se difunde el ácido a partir de la placa hacia la saliva, se acumula ácido en la placa.

La siguiente sucesión de pasos metabólicos y de difusión ilustra este punto.

Glucosa	Glucosa	ácido	ácido
en	en la	en la	en la
saliva.	placa	placa	saliva

Cuando se acumula ácido en la placa, el pH - de ésta descende, y puede medirse con relativa facilidad con microelectrodos de antimonio ó vidrio. Cuando se enjuaga la boca con una solución de glucosa al 10 -- por % y se mide el pH antes, durante, y después de un período de aproximadamente una hora se obtiene una -- curva de pH con las características generales. (la curva de este tipo se llama curva de Stephan).

Durante el enjuague con la solución de glucosa al 10 por %, parte de la glucosa entra en la placa, -- mientras que el resto se diluye y se elimina de la boca por la saliva.

La glucosa que entra en la placa es de caracter pasajero y como la velocidad a la cual se convierte en ácido es mayor que la velocidad a que se elimina -- el ácido, la concentración de ácido en la placa aumenta rápidamente. Una vez que la glucosa de la placa -- se usa, la concentración de ácido baja lentamente.

Sin embargo, si aumenta la cantidad de glucosa disponible en la placa, bien sea por aumento de la - concentración de glucosa o el tiempo en que esta disponible para las bacterias de la placa se produce una - - curva de Stephan con una área mayor entre la curva y la línea basal. Un mayor aumento en la cantidad de -

glucosa hará que el pH permanezca a un nivel mínimo - por un período mayor.

Los experimentos como los descritos han - - mostrado claramente que la disponibilidad de carbohidra - tos para las bacterias de la placa condiciona la respues - ta del pH de la placa. Cuando se dispone de carbohi - drato en forma ilimitada y por lo tanto en exceso, el - pH desciende a un valor mínimo y permanece así por - tanto tiempo como se disponga de carbohidratos. Una - vez que las bacterias de la placa usan el carbohidrato - o bien que sea eliminado por la saliva, o ambos, se e - leva el pH. Si entonces se repite el enjuague de gluco - sa se produce de nuevo una curva de Stephan y se pue - de demostrar que ocurren respuestas ácidas similares - cuando el enjuague de glucosa es reemplazado por inges - tión de carbohidratos de la dieta. El aumento en la - frecuencia de ingestión de carbohidratos aumenta la fre - cuencia de respuesta de ácido; cuanto más tiempo per - manezcan en la boca los carbohidratos de la dieta des - pués de su ingestión, mayor tiempo pasará para que el pH vuelva a los niveles iniciales.

En cuanto más frecuentemente se forme el - - ácido y permanezca por más tiempo en la superficie de un diente el esmalte estará sujeto a ataque por el ácido más frecuentemente y por más tiempo. La disolución - del esmalte depende de las condiciones de solubilidad - del fosfato de calcio en la placa y en la superficie del - diente.

El fosfato de calcio que es la sal que consti - tuye casi toda la porción inorgánica del esmalte y den - tina, tiene una solubilidad muy baja a pH neutral y lige - ramente ácido, pero se hace progresivamente más solu - ble conforme disminuye el pH, particularmente por deba -ajo de 5.0.

Cuando no existe placa en la superficie de un diente y el esmalte de un diente está en contacto continuo con la saliva no se produce disolución de la proci6n mineral del esmalte, pues existe suficiente calcio y fosfato en la saliva para evitar que el diente se disuelva. Mientras la saliva permanezca "super saturada" con fosfato calcico, el esmalte estar4 protegido, y se puede tolerar la formaci6n de alguna cantidad de 4cido antes de que el diente se disuelva. El pH al cual la saliva no protege al esmalte de la disoluci6n por el 4cido se llama pH cr4tico, este pH rara vez se alcanza en ausencia de placa.

MICROORGANISMOS DEL PROCESO DE CARIES.

Nuestro conocimiento actual de los microorganismos especificos del proceso de la caries proviene de estudios realizados en seres humanos y en animales de laboratorio que comprenden: cricetos, ratas, monos, cerdos enanos.

Aunque durante mucho tiempo parec4a que no hab4a duda a partir de los estudios en seres humanos de que las bacterias eran esenciales para que ocurriera la caries dental, no fue hasta que se hizo investigaci6n en animales que se estableci6 definitivamente la prueba de ello. Sin embargo, todav4a existe la pregunta sin respuesta a4n despu4s de muchos a4os de investigaciones en cuanto a cu4l de los microorganismos encontrados en la micrflora bucal compleja es el agente causal o los agentes causales de este padecimiento.

Los microorganismos que han sido estudiados en forma m4s intensa han sido los estreptococos y lactobacilos, aunque tambi4n se han estudiado en menor

grado otros microorganismos como las levaduras y Veillonella.

Cuando menos veintisiete variedades de microorganismos se han aislado de la placa dental madura, que además de bacterias contiene células epiteliales y leucocitos. La cuenta microscópica es aproximadamente 2.5 por 10^{11} bacterias por gramo, mientras que la cuenta total cultivable hecha en forma anaerobia y aerobia es aproximadamente 7.1 por 10^{10} microorganismos por gramo, lo que hace pensar que una gran proporción de microorganismos en la placa están muertos, o si son viables no pueden crecer en los medios de cultivo.

La cuenta predominante de formas cultivables en microorganismos en la placa son como siguen:

Estreptococos facultativos	27 x 100
Difteroides facultativos	23 x 100
Difteroides anaerobios	18 x 100
Peptoestreptococos	13 x presentes a un nivel de menos de 0.01 x 100
Fusobacterias	4 x 100
Neisseria	3 x 100
Vibrios	2 x 100

Como los lactobacilos están presentes a un nivel de menos de 0.01 x 100 es evidente que a diferencia de los estreptococos, representan sólo una porción menor de la microflora de la placa. Sin embargo, las muestras tomadas de la boca en Agar han mostrado que la frecuencia de lactobacilos es mucho más localizada y que es mayor en las fisuras, en los espacios interproximales, y en los bodes gingivales, las áreas hay tendencia a la producción de caries. Los individuos

con múltiples caries la distribución de los lactobacilos es más extensa y se pueden observar en áreas que se limpian más fácilmente como el paladar.

Como los estreptococos existen la boca en grandes cantidades y son capaces de convertir rápidamente los carbohidratos en ácido, la mayor parte de los investigadores han pensado que los estreptococos pueden tener un factor predominante en la formación de la lesión de caries.

Sin embargo, los estreptococos abundan tanto en los individuos con caries activa así como en los que no tienen caries, y su distribución es no localizada, en contraposición a los lactobacilos que sí son localizados. Los esfuerzos para relacionar las cuentas totales de estreptococos con actividad de caries han mostrado sólo una ligera correlación. Por esta razón, los investigadores han fijado su atención en las diferencias de los estreptococos en las floras respectivas, particularmente en relación con su capacidad para formar ácido, polisacárido intra y extracelular, y la placa.

Las grandes cantidades de estreptococo y la poca correlación con la actividad de caries, en contraste con la poca cantidad de lactobacilos con la gran correlación con la actividad de caries, son fenómenos demostrados y que parecen ser paradójicos.

Sin embargo, al examen cuidadoso de los estudios relacionados con esta situación aparente que indica que estas dos relaciones pueden no excluirse mutuamente. Hay la posibilidad de que los estreptococos proporcionen gran parte del ácido que produce el descenso en el pH de la placa y en otros lugares de la boca; y que en algunas partes, particularmente los dientes, el

ácido es suficiente para que los lactobacilos se establezcan, y una vez establecidos aumenten el ácido total producido cuando se ingieren carbohidratos con la dieta.

LACTOBACILOS. - En la boca libre de caries, comunmente no hay lactobacilos. Se ha intentado introducir este microorganismo en la boca de individuos libres de caries, mediante inoculación, y no se ha logrado, lo que indican que no existen en estos individuos -- condiciones que favorezcan el establecimiento de estos microorganismos.

Quando se restringe moderadamente el contenido de carbohidratos de la dieta de grupos de individuos que tienen caries y cuentas altas de lactobacillus, como la dieta de Beck, las cuentas descienden rápidamente, y aumentan cuando el contenido de carbohidratos vuelve a su nivel original.

Quando el carbohidrato de la dieta se restringe mucho como en la dieta de Jay, algunos individuos que muestran disminución de las cuentas de lactobacillus hasta cero ó niveles muy bajos, no muestran vuelta a las cuentas altas por períodos hasta de seis meses. Esto puede ser debido a que los individuos cuyas cuentas permanecen bajas continúan evitando los carbohidratos de sus dietas, ó por que en su boca se desarrollan condiciones que no favorecen el restablecimiento de este microorganismo.

Existe la posibilidad, aunque no es probable, que no haya ocurrido exposición a los lactobacilos.

Si las condiciones en la boca cambian de tal manera que aumenta la retención de carbohidratos, entonces aun sin alteración en la dieta, las cuentas de --

lactobacilos aumentarán. Por ejemplo, en la boca desdentada, prácticamente no existen sitios de retención, y las cuentas de lactobacilos son extremadamente bajas, ó de cero.

Una vez que los dientes brotan en un niño, ó que se aplican dentaduras artificiales como en el adulto desdentado, la presencia de dientes ofrece sitios de retención para los carbohidratos de la dieta, y la cuenta de lactobacilos aumenta claramente.

En las bocas que tienen lesiones de caries abiertas, éstas presentan sitios de retención para los carbohidratos de la dieta, y en proporción directa la cuenta de lactobacilos es alta. Sin embargo, una vez que se eliminan estos sitios de retención mediante trabajos de odontología restauradora, la cuenta de lactobacilos desciende rápidamente.

Las cuentas de lactobacilos observadas en individuos que viven en áreas donde el flúor es escaso, son mayores que las de los individuos que viven en áreas donde el contenido de flúor es óptimo; las cuentas altas han sido atribuidas a la presencia de mayor número de cavidades y, por lo tanto, de mayor número de sitios de retención.

Quizá la demostración más espectacular del efecto del aumento de los sitios de retención en la cuenta de lactobacilos haya sido mostrada en un estudio en el cual se insertaron prótesis palatinas en la boca de individuos que inicialmente tenían cuentas bajas de lactobacilos.

Las cuentas aumentaron inmediatamente e igualmente bajaron en forma rápida a los niveles originales.

cuando las prótesis fueron retiradas. Estas alteraciones son similares a las que se observan comúnmente en la clínica cuando la actividad de caries en las superficies de los dientes, previamente libres de caries, aumenta intensamente al entrar los dientes en contacto con prótesis nuevas ó aparatos ortodóncicos.

De estos estudios resulta obvio que la presencia de dientes en la boca, las alteraciones en la forma de los dientes por las caries, y la inserción de aparatos pueden favorecer la retención de carbohidratos de la dieta que permiten que el lactobacilo se establezca, ó si ya está presente, aumente de número.

Como estos microorganismos son acidúricos, es decir, con un pH bajo (comunmente de 5.0) favorece su crecimiento, entonces solamente aquellos sitios en la boca donde el pH puede permanecer bajo por períodos largos, favorecen su establecimiento. Esto es posible sólo en áreas de los dientes que han tenido muy poco contacto con saliva.

Como estos sitios constituyen sólo un pequeño porcentaje del área total en que las bacterias pueden crecer, no es sorprendente que estos microorganismos constituyan tan pequeño porcentaje de la flora bucal total. Estos sitios son los más ácidos en la boca y donde ocurren las caries, es explicable que la mayor parte de los investigadores han concluido que la presencia de lactobacilos en la boca no es la causa de caries, sino que más bien indica la presencia de condiciones que favorecen a la caries dental. En otras palabras, la mayor parte del ácido proviene de los estreptococos que son más numerosos; por lo tanto, si bien los lactobacilos proporcionan un sitio particular con ácido adicional en cantidad suficiente para exceder el pH crítico, no

sería correcto asumir que los lactobacilos con la causa de la caries dental.

Parece ser que la cuenta de lactobacilos está relacionada con la edad del individuo. En niños hasta de ocho años de edad estos microorganismos están presentes en aproximadamente 35 por $\%$ de las bocas; en gente joven de ocho a veinte años de edad, están presentes en 85 a 95 por $\%$; y en las personas mayores de 20 años de edad, la frecuencia es aproximadamente de 50 por $\%$.

Esta variación con la edad parece corresponder a la frecuencia de caries de los grupos respectivos de edad.

El culativo de muestras obtenidas por raspado de las de las áreas blancas del esmalte (que sugieren caries activa inicial y que encuentran comúnmente en las regiones cervicales de los dientes) ó de cavidades que se inician y también de cavidades profundas, muestran la presencia de lactobacilos en un gran porcentaje de los casos. También un alto porcentaje de individuos que no presentan caries, rara vez se obtienen cultivos positivos de lactobacilos.

Aunque la presencia de cuentas altas, ó bajas, de lactobacilos generalmente indica actividad de caries ó inactividad respectivamente, hay casos en los cuales no existe relación alguna.

Otra razón probable para esta falta de relación es que existe dificultad considerable para correlacionar la presencia de lactobacilos con actividad de caries cuando la actividad se determina mediante medida del aumento en el número de lesiones de caries durante un período determinado.

Se necesita cuando menos unos cuantos meses para que la caries se haga clínicamente evidente, la -- cuenta de lactobacilos, que responde rápidamente a las -- alteraciones en los carbohidratos de la dieta tiene la -- oportunidad de fluctuar entre cero y varios millones mu -- chas veces durante el mismo período.

ESTREPTOCOCOS. - De los estreptococos de -- la boca, los estreptococos acidúricos, como los lactoba -- cilos, crecen en medio ácido y presentan solamente una -- porción menor de la flora total; comprenden los grupos -- hemolíticos, láctico, y de enterococos. De los strep -- tococos restantes, *S. mitis*, *S. salivarius* han recibido -- la mayor atención el papel de los estreptococos en el -- proceso de la caries. *S. salivarius*, la cepa predomina -- te de estreptococos en la lengua y otros tejidos blandos -- de la boca, puede producir lesiones similares a la ca -- ríes in vitro y existen algunos datos de que hay una re -- lación entre la frecuencia de este microorganismo y la -- caries dental. Sin embargo, en la placa dental la fre -- cuencia de este microorganismo es muy baja.

S. mitis, por otra parte, se encuentra en nú -- meros mucho mayores en la placa dental que *S. saliva -- rius*; el primero es el predominante entre los microor -- ganismos de la placa que son capaces de almacenar po -- lisacáridos, propiedad que permite que la placa forme -- ácido cuando menos durante un corto tiempo después de -- que ya no se dispone de carbohidratos extracelulares.

Como se mencionó antes, las cuentas totales -- de estreptococos en la saliva obtenidas mediante la mas -- ticación de cera de parafina son ligeramente mayores, -- pero no en forma importante, en los individuos con ca -- ríes activa que en los individuos que no presentan ca -- ríes.

El número de estreptococos que existen solo en la placa es mayor en forma importante en el grupo de caries activa. La razón por la que no se ha demostrado una correlación importante entre la actividad de caries y las cuentas totales de estreptococos en una muestra de saliva es obvia cuando se considera también que una proporción importante de los estreptococos en la saliva proviene de la lengua y de las superficies de otros tejidos blandos de la boca. La razón de que exista una ligera correlación entre *S. salivarius* y la actividad de caries puede atribuirse al hecho que las condiciones en la boca que favorecen a los microorganismos acidógenos en la placa dental, también favorecen la existencia de un mayor número de microorganismos acidógenos como *S. salivarius* en la lengua y en los tejidos blandos de la boca.

Los individuos con caries activa además de tener mayor número de estreptococos por miligramo en la placa, también tienen incidencia mayor de *Candida* en la placa y en la saliva, y también hay mayor frecuencia de *Veillonella*. Estos factores indican que las condiciones en la boca de individuos con caries activa favorecen la presencia de un mayor número de microorganismos acidógenos.

El efecto neto es una formación más rápida en la placa en respuesta a los carbohidratos de la dieta en los individuos con caries activa.

TEMA IV. - Comparación de la Microflora bucal en humano con animales del laboratorio.

Existe poca información sobre la composición de la flora bucal normal de los animales experimentales, aunque muchos investigadores han manifestado la necesidad de tales estudios.

Los estudios de esta naturaleza presentan numerosas complicaciones y por lo tanto se obtienen datos muy variables. Tiempo y método de muestreo, dieta, edad, sexo y especie del animal son algunos datos necesarios para tratar de definir la flora bucal.

Los métodos utilizados para la toma de muestras de la flora bucal incluyen frotación de la boca con una torunda de algodón, extracción y molido de los dientes, retiro de una cantidad determinada de saliva con una pipeta capilar, y hasta la manceración de la cabeza. Se utilizan muchos tipos de dieta en los estudios experimentales. Sin duda, la composición de la dieta influye sobre el número y tipo de microorganismos que se encuentran en la boca.

En los seres humanos, se ha visto que una restricción severa en el consumo de carbohidratos resulta en una disminución en el número de lactobacilos salivales bucales.

Existen varios informes acerca de la flora bucal de animales de experimentación. Hay dos grupos de microorganismos comunes a todas las especies, son los lactobacilos y los estreptococos. Estos microorganismos son capaces de causar caries dental en los animales y se presume que también en los humanos.

DISTRIBUCION COMPARATIVA DE LOS MICROORGANISMOS BUCALES EN EL HOMBRE Y ALGUNOS ANIMALES DE LABORATORIO.

Género	Humano	Mono	rata arrocera	rata Albina	rata Algodón	Criceto
Actinobacillus			+			
Actinomyces	+		+			
Bacillus	+		+			
Leptotrichia	++		+			
Bacteroides	+	+	+			
Clostridium	0		+			
Coliformes	+	+	++	++		
Corynebacterium y difteroides	+	+	++			
Diplococcus	+					
Fusobacterium	++	+	+			++
Henophilic	+					
Lactobacillus	+	+	+	+	+	++
Mycobacterium	0					
Neisseria	+	+				
Microorganismos de tipo pleuro- neumonia	+					
Bacilos Paracolon			++			
Proteus	+					
Protozoarios	+					
Pseudomonas	+					
Sprochaeta	++	+	0			+
Staphylococcus	+	++	++	+		+
Streptococcus	++	++	++	++	++	++
Alfa	++	++		++		
Beta	+	0		+		
gamma	+	++		++		
Enterococos	+		++		++	
Peptostreptococci	++					
Veillonella	++	+				
Vibrio	++	+				
Virus	+					
Levaduras	+	+		+		+
Candida	+	+		++		
Otros tipos		+				

CEPAS BACTERIANAS CARIOGENICAS Y NO CARIOGENICAS

Laboratorio	Género	Especie	Número de cepa	Origen	Cariogenicidad.		
					Rata	Criceto	
Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, Md.	Lactobacillus	acidophilus	108TR	Rata	+	-	
		Streptococcus	F - 1	Rata	+	-	
			GF-71	Rata	+	-	
			25QR4R	Rata	+	-	
			GF-79	Humano	+	+	
			SL	Humano	-	+	
			K1-R*	Humano	+	+	
			Hs-1	Criceto	+	+	
			HS-4	Criceto	-	+	
			HS-6	Criceto	-	+	
			E-49	Criceto	+	+	
			HS-7	Criceto	-	+	
			HS-10	Criceto	-	+	
			2F2	Criceto	-	-	
			2M2	Criceto	-	-	
		Lactobacillus		HO-50x	Criceto	-	-
				HO-128	Criceto	-	-
				HO-156	Criceto	-	-
			HO-204	Criceto	-	-	
			HO-311	Criceto	-	-	
			HO-366	Criceto	-	-	
Centro Dental Forsyth, Boston, Mass.	Streptococcus		GF-71	Rata	+		
			PK-1	Humano	+		
			CM-7	Humano	+		
			GS-15	Humano	+		
			120	Humano	-		
			130	Humano	+		
			98E	Humano	+		
		mitis	S-3	Humano	+		
			SBE-L	Humano	+		
		Semejante a salivarius	SS-2	Humano	+		
Universidad de Miami, Miami, Fla.	Streptococcus		AHT	Humano		+	
			BHT	Humano	+	+	
			CHT	Humano		-	
			DHT	Humano		+	
			EHT	Humano		+	
			FHT	Humano		+	
			HHT	Humano		+	
	IHT	Humano		+			
Lobund Notre Dame, Indiana	Streptococcus	fecalis	ND547	Rata	+		
		liquefaciens	ND539	Rata	+		
	Lactobacillus		ND465	Humano	+		
		(heterofermentativo)	ND553	Humano	-		
	Anaerobio grampositivo (asporógeno)		ND717	Rata	-		
Clostridium	tertium	ND56D10	Rata**	-			
		ND727	Rata	-			

CEPAS BACTERIANAS CARIOGENICAS Y NO CARIOGENICAS (continda)

Laboratorio	Género	Especie	Número de cepa	Origen	Cariogenicidad	
					Rata	Criceto
Universidad del Estado de Ohio, Columbus, Ohio	Staphylococcus	semejante a	ND753	Rata**	-	
		-	ND566	Rata	-	
	Proteus	Vulgaris	ND558	Humano	-	
	Aerobacter	aerogenes	ND725	Rata	-	
	Pseudomonas	ceruginosa	ND552	Rata	-	
	Chromobacterium	-	ND548	Rata	-	
	Lactobacillus	Casei	ATCC 4646	Humano	+	
	Escherichia	coli	RI	Rata	-	
	Streptococcus	semejante a salivarius	HI	Humano	+	
		salivarius	ATCC 13419	Humano	+	
		semejante a sangis	167	Humano***	+	
	Leucocostoc	mesenteroides	ATCC 10830a	-	-	
		sporogenes	ATCC 8086	Judías verdes en fermentación	-	
	dextranicum			-		
Universidad de Lund, Malmo, Suecia	Streptococcus	citrovorum	ATCC 8082	-	-	
		-	Ingbritt 1600	Humano		+
		-	Marianne	Humano		+

* K1-R también indujo caries en la rata del desierto convencional.

** Contaminante accidental de los aisladores, fueron probados nuevamente introduciéndolos en ratas destetadas libres de gérmenes.

*** Obtenidas del Dr. I. L. Shklair, Great Lakes III,

+ Cariogénico.

- No cariogénico.

+ Resultado dudoso.

- o espacio en blanco significa que se carece de los datos.

COMPARACION DE LOS INDICES DE CARIES PRODUCIDOS POR ALIMENTOS*

Alimento probado	Experimentos con-	Experimentos con
	el suplemento an- ti cartogénico.	el suplemento ca- rriagénico
	Promedio de ocho ratas.	Promedio de ocho ratas
Galletas para perro	0.0	0.0
Rosetas de maíz	0.0	1.8
Sorbitol	0.0	1.0
Maní	0.0	2.3
Leche entera +	0.0	4.2
Limón**	0.0	4.3
Hojuelas de maíz	0.0	7.0
Col	0.0	7.0
Lechuga	0.0	9.7
Testigo (únicamente dieta básica)	0.0	11.3
Albaricoques secos**	0.0	11.3
Naranjas**	0.0	16.8
Galletas de soda	0.3	11.6
Espinacas	0.6	4.6
Pan de trigo partido	1.3	13.7
Hojuelas de patata	1.6	6.7
Pan de trigo integral	2.0	17.7
Zanahorias +	2.1	21.1
Almidón de maíz +	3.3	10.2
Pan blanco con mantequilla	4.9	22.1
Pan blanco con mantequilla de maní	5.2	18.0
Galletas de Graham	8.7	22.7
Pan de pasas	9.0	17.2
Tostadas melba	9.0	19.6
Pan blanco	9.2	15.1
Pan blanco y mermelada de zarzamora	10.2	33.0
Higos	10.3	29.0
Pan de centeno	12.7	29.0
Goma de mascar	14.0	27.2
Caramelos	16.0	50.4
Galletas de Graham de chocolate	18.0	39.1
Galletas infantiles	18.5	22.0
Galletas de Graham de miel	19.2	21.6
Manzanas**	19.4	81.7
Galletas de vainilla	19.7	30.2
Plátanos	21.0	73.7
Galletas de emparedado de chocolate	23.8	92.2
Uvas**	24.1	42.4
Montas	24.7	42.1
Galletas infantiles para estimular dentaría	29.0	29.2
Cola**	29.6	40.2
Malvaviscos	30.1	42.2
Dextrosa	30.6	43.5
Papas	30.9	61.6
Agua con 10 por 100 de sacarosa	32.3	20.6
Dátiles	32.7	38.5
Leche con chocolate	34.1	41.2
Pan blanco con jalea	36.7	36.2
Azúcar de repostería	38.4	60.2
Agua con 10 por 100 de dextrosa	41.3	45.5
Behida a base de naranja**	43.5	26.1
Sacarosa	62.1	51.9

* Adaptado de Stephan, R.M.: J. Dent. Res., 45:1, 551, 1966.

** Produjeron erosión dental.

+ Produjeron un índice de sarro mayor que el promedio (más de 1.5).

Bacterias del proceso de caries en animales.

La caries dental no ocurre sin la presencia de bacterias y esto puede demostrarse por medio de una técnica en la cual se crían animales de laboratorio en un medio libre de bacterias.

Las ratas criadas con este procedimiento, libres de bacterias, muestran índices de crecimiento, desarrollo, y metabolismo general comparables a los de las ratas criadas en forma convencional.

Cuando se administra dieta cariogénica a las ratas libres de gérmenes y a las ratas convencionales, las ratas libres de gérmenes muestran ausencia completa de caries dental, aún en observación microscópica. Por otra parte, las ratas crecidas en forma convencional desarrollan numerosas lesiones de caries. Cuando los animales libres de gérmenes se inoculan deliberadamente con cepas específicas de bacterias cultivadas de lesiones de caries en ratas convencionales, algunas de las bacterias producen caries, pero la mayor parte de ellas no.

Se ha logrado producir, en la forma más satisfactoria, en la infección que resulta en formación de caries en animales libres de gérmenes, mediante el uso de estreptococo, varias cepas de las cuales fueron tomadas de seres humanos con caries activas.

También se ha logrado la formación de caries en los animales libres de gérmenes con un enterococo y más recientemente con un lactobacilo. Los estreptococos y los lactobacilos capaces de causar caries son fuertemente acidógenos, y producen ácido láctico como su único producto final cuando se incuban con azúcares in vitro.

Además de ser acidógenos, los estreptococos mostraron capacidad, particularmente en presencia de sacarosa, para adherirse firmemente a las superficies de los dientes y a varios materiales inertes.

Esta adhesividad ha sido atribuida a la gran cantidad de carbohidratos extracelulares formada por estas cepas de estreptococos, pues esos estreptococos incapaces de producir caries producen solamente pequeñas cantidades de ese carbohidrato extracelular.

Además de la técnica libre de gérmenes, también se ha empleado un método menos laborioso para probar la cariogenicidad de animales del laboratorio.

La flora bucal normal en una hembra embarazada con caries activa se suprime con un antibiótico que normalmente es penicilina.

Los descendientes y animales de generaciones subsecuentes muestran la misma depresión de la flora y se pueden emplear como animales experimentales para estudiar la cariogenicidad de microorganismos específicos por reinfeción. Los cricetos tratados con penicilina de esa manera y sus descendientes permanecen libres de caries con una dieta cariogénica que ordinariamente produciría caries dental rápida y extensa. Si se coloca a estos animales en contacto con otros animales con caries activas, las lesiones de caries se desarrollan mostrando claramente que otros animales tratados con penicilina no almacenaron una microflora cariogénica.

Se ha mostrado mediante esta técnica que varias cepas puras de estreptococos son cariogénicas, mientras que varias cepas puras de lactobacilos dife-

roides y levaduras son inactivas en cuanto a caries. - Las cepas cariogénicas de estreptococos activos en ratas tratadas con antibióticos han sido ineficaces para producir caries en cricetos tratados en forma similar. - Al contrario, los estreptococos cariogénicos en el criceto fueron ineficaces para producir caries en las ratas tratadas con antibióticos. Estos experimentos han demostrado que la caries dental puede ser transmisible y que la infección puede inducirse con cepas específicas de estreptococos.

SALIVA EN ANIMALES. - En animales de experimentación, se ha demostrado que la saliva es un líquido que inhibe la caries. Se ha visto que si se extirpan las glándulas salivales hay un aumento marcado en la susceptibilidad a la caries dental. (La extirpación quirúrgica de las glándulas salivales se ha denominado desalivación, salivariadenectomía ó sialodenectomía).

En ratas sialodenectomizadas se observa un aumento en la cantidad de lactobacilos de la cavidad bucal.

La extirpación de las glándulas salivales también anula la capacidad amortiguadora, actividad antibacteriana, acción lavadora, actividad enzimática y potencial de maduración de saliva, todos los cuales pueden influenciar el proceso de caries.

La saliva de los seres humanos se ha estudiado intensamente. La saliva de los roedores se ha estudiado menos, en parte porque hasta recientemente se perfeccionó la técnica para juntarla.

Básicamente, la técnica utilizada para juntar saliva de roedores consiste en anestesiarse al animal y

administrar un sialogogo como clorhidrato de pilocarpina o metil calina. En 20 minutos se puede juntar de 2 a 3 ml. de saliva de un roedor adulto.

En el momento de salir de la boca, en el roedor ó en el humano, la saliva sufre cambios en su composición física y química. El bióxido de carbono se pierde inmediatamente, lo cual provoca un alza de pH. Los cambios de pH pueden causar la precipitación de las proteínas, el fosfato de calcio o ambos.

Para estudiar la saliva correctamente, deben tomarse en cuenta estos cambios rápidos. Un método para recoger saliva en un estado casi natural consiste en colocar una cánula dentro del conducto salival y recibir la en un recipiente bajo aceite. Sin embargo, tan pronto se use esta saliva para su estudio, sufrirá cambios rápidos.

Tanto la saliva humana como la de roedores afectan la flora bucal. Aunque existen reportes de que la saliva favorece el desarrollo de ciertos microorganismos, la mayor parte de los trabajos indican que inhibe el crecimiento de casi todas las especies de microorganismos.

DIFERENCIA ENTRE LA ENFERMEDAD PARODONTAL EN HUMANO Y EN ANIMAL.

La enfermedad periodontal en la rata arrocea y en el hombre posee muchas similitudes, incluyendo una acumulación de residuos alrededor del diente, irritación gingival conducente a la inflamación, ulceración y atrofia del epitelio gingival, resorción del hueso alveolar y cemento, degeneración de los elementos fibrosos -

y celulares del ligamento periodontal así como recesión gingival y formación de bolsas.

También existen ciertas diferencias entre la enfermedad periodontal del hombre y la que se ve en la rata. En la rata arrocera, la enfermedad es más generalizada y progresa rápidamente, quizá debido a que la rata no es capaz de limpiar los residuos que se acumulan, una vez que se han presentado las lesiones iniciales, ya que existen factores generales predisponentes. El tratamiento prolongado con antibióticos no es capaz de prevenir ó arrestar el desarrollo de la enfermedad periodontal en el hombre, mientras que en los animales los antibióticos sí son capaces de prevenir esta enfermedad.

SARRO DENTAL EN HUMANO Y EN ANIMALES.

La producción de sarro en animales de experimentación ha sido objeto de recientes investigaciones. El sarro es una concreción que se forma en las superficies de los dientes. Puede ocurrir subgingivalmente ó supragingivalmente.

Contiene diversos minerales cristalinos, brunita, apatita (tipo hidroxilcarbonato) Whitlocklita y tetra-calcio hidrógeno trifosfato trihidratato (fosfato de acta-calcio), así como materia orgánica e inorgánica. Su contenido orgánico varía de 6 por 100 a 15 por 100, contenido de agua de 6 por 100 a 20 por 100, calcio de 30 por 100 a 40 por 100, fósforo de 6 por 100 a 20 por 100, magnesio de 0.4 por 100 a 1.4 por 100, y carbonato de 2 por 100 a 5 por 100.

Mineralización de microorganismos.

La deposición de sarro depende de la formación de placa dental.

Las condiciones bajo las cuales la placa se calcifica no han podido determinarse. Aparentemente, la saliva con un contenido supersaturado de calcio y fósforo, así como una tensión de dióxido de carbono elevada, contribuye substancialmente a la formación del sarro.

Estudios in vitro indican que ciertos microorganismos se calcifican cuando se cultivan en determinado medio ó se colocan en una solución que contiene sales minerales en las mismas concentraciones que en la saliva. Trozos de piel, lengua, labio y mucosa no se calcifica cuando se les coloca en la misma solución.

En el estudio del sarro se han empleado animales en forma extraña. *Streptococcus salivarius*, un difterioide bucal, *actinomyces israelii*, *actinomyces naeslundii*, *bacterionema matruchotti* y un preparado de colágeno se mineralizan con apatita después de ser implantados dentro de bolsas de diálisis colocadas en la cavidad peritoneal de ratas durante 90 días. Las primeras señales de mineralización se aprecian entre los 14 y 26 días.

En especímenes conteniendo cultivos de *S. salivarius* tratados con acetona e pasados por la autoclave, la apatita se forma en seis a ocho días. La mineralización de bacterias no viables indica que el proceso metabólico bacteriano no es necesario para la mineralización.

Aunque una vairedad de materiales orgánicos - pueden servir de núcleo para la formación de sarro, -- las bacterias constituyen un núcleo natural.

SARRO EN ANIMALES. - El sarro se forma - en los dientes de ciertos animales de experimentación. - Usando una dieta conteniendo 66.5 por 100 de almidón - de maíz, 27.0 por 100 de polvo de leche íntegra, 5 por 100 de levadura íntegra seca, 1.0 por 100 de aceite de - higado de bacalao, 5 por 100 de una mezcla de sal (500 gr. cloruro de sodio, 53.2 gr. de citrato férrico trihi - dratado y 3.9 gr. de sulfato de cobre pentahidratado), - se han producido depósitos calcáreos en molares de la - rata albina.

Estos depósitos fueron identificados, mediante la difracción de rayos X, como apatita. Ni el cloranfe - nicol ni la tetraciclina, capaces de inhibir amplia gama - de microorganismos, inhiben la deposición de sarro.

El sarro subgingival se ha observado en las - superficie lingual de los molares de cricetos. La forma - ción de sarro en el criceto se facilita con la dieta usual - de laboratorio.

Se ha comunicado la deposición de sarro en - ratas y ratones libres de gérmenes. Se observaron de - pósitos duros teñibles con alizarin en los molares supe - riores de ratones libres de gérmenes.

Administrando una dieta baja en ácido fólico, - se produjo un material raro, quebradizo en el primer - molar superior de las ratas libres de gérmenes; fué -- identificado mediante difracción de rayos X, como apati - ta. La formación de sarro en animales libres de gér - menes se debe a la hidrolisis de los ésteres de ácidos-

grasos de la esterasa.

La enzima esterasa se encuentra en los depósitos sobre los dientes, y se cree que proviene de células epiteliales, leucocitos polimorfonucleados y macrófagos. Los ácidos grasos liberados por esta acción enzimática se combinan con calcio y magnesio formando jabones, que a su vez se convierten en formas menos solubles de carbonato y fosfato.

Otro mecanismo que explica la formación de sarro en los animales libres de gérmenes es que la anhidrasa carbónica salival cataliza la formación de carbonato de hidroxapatita, usando como substrato los componentes inorgánicos de la saliva y la dieta. Se produjo sarro sintético in vitro utilizando anhidrasa carbónica comercial sin la presencia de ácidos grasos.

El almidón de maíz ha sido identificado como un alimento que induce la formación de sarro en ratas. Otros almidones como el del trigo sin modificar, arroz, tapioca, amioca, patata pregelatinizada y trigo, no producen tanto sarro como el almidón de maíz.

El sarro, también es producido por la amilopectina, la fracción insoluble del almidón, en mayor cantidad que por la amilosa, la fracción soluble.

TEMA V. - Contribución de los animales de laboratorio a la microbiología bucal.

A). - ACCION DEL FLUORURO. Se han utilizado animales para estudiar el efecto de los fluoruros sobre la caries dental.

Existen pruebas de que los fluoruros poseen un efecto anticariogénico cuando se administra por vía general durante el desarrollo del diente. Uno de los descubrimientos que condujo a recomendar la adición de fluoruros al agua potable fué que los dientes de ratas formadas con una dosis de fluoruros menor a la requerida para provocar esmalte moteado, a través de la placenta y la leche materna, aumentó la resistencia a la caries.

Las ratas que recibieron fluoruros mediante un tubo insertado directamente al estómago y aún las ratas sialodenectomizadas, mostraron mayor resistencia a la caries dental.

Sin embargo, algunos estudios indican que los fluoruros actúan a nivel local y no general. La inyección de fluoruros por vía subcutánea, a ratas ofrece poca ó ninguna protección a la caries.

Los terceros molares de cricetos no desarrollan caries si se tratan con fluoruro después de haber hecho erupción, pero el tratamiento administrado antes de su erupción no retarda el desarrollo de caries rampanante.

Varios reportes indican que los dientes libres de caries contienen más fluoruro que los dientes con caries. El fluoruro de los dientes disminuye su solubilidad en los ácidos. El fluoruro dental también ejerce

un efecto antienzimático (la enolasa es muy sensible al fluoruro) y evita la conversión de azúcares en ácido láctico por los estreptococos y lactobacilos. El nivel de fluoruros en saliva nunca es mayor de 0.2 partes por millón, sin importar la cantidad que se haya ingerido. Esta concentración no es lo suficientemente grande para afectar la producción de ácidos por lactobacilos y estreptococos; por lo tanto, si el fluoruro ha de ejercer un efecto antibacteriano, tiene que suceder cuando el microorganismo entra en contacto con el diente.

Los roedores viejos son considerablemente más resistentes a la caries que los roedores jóvenes.

Los dientes de los animales viejos están más mineralizados que los dientes de los jóvenes, probablemente debido a que han estado expuestos a la saliva durante más tiempo. La mineralización ó maduración, se pone al proceso cariogénico de desmineralización. El fluoruro puede ejercer su efecto anticariogénico facilitando la mineralización, ya que las aplicaciones tópicas de fluoruros aumentan el nivel de mineralización. Por lo tanto, parece ser que los fluoruros son eficaces si se administran por vía general. Durante la formación del diente y aplicados tópicamente después de que el diente haya hecho erupción.

Los Fluoruros pueden inhibir la caries mediante 3 mecanismos;

1. - Disminuyendo la solubilidad del esmalte.
2. - Ejerciendo en efecto antienzimático.
3. - Facilitando la maduración después de la erupción.

AGENTES ANTICARIOGENICOS SIN FLUORUROS.

Se han utilizado los animales para probar agentes anticariogénicos sin fluoruros. Los antibióticos se han utilizado extensamente.

Los antibióticos que inhiben principalmente la flora grampositiva, como la penicilina y la bacitracina, son más eficaces como inhibidores de caries que los antibióticos de amplio espectro como el cloranfenicol (clorimicetina), estreptomocina, clorotetraciclina (aureomicina) y exotetraciclina (terramicina).

Los antibióticos son eficaces para reducir el número de estreptococos y lactobacilos bucales, y se piensa que mediante este mecanismo se inhibe la caries.

Otro inhibidor de caries que ha probado ser efectivo en pruebas con animales es el N-lauroil sarcosinato de sodio. Este compuesto posee la habilidad de inhibir la glicólisis, de permanecer en la placa bacteriana y de inhibir la caries en los animales y seres humanos si se utiliza correctamente.

Además de los compuestos mencionados, se han probado un gran número de agentes químicos y antibióticos para determinar su actividad anticariogénica. En general, la eficacia de estos agentes estriba en su habilidad de mantenerse en el sitio de la actividad de caries, inhibir la flora cariogénica, disminuir la solubilidad del esmalte en los ácidos ó ambos.

La adición de fosfato a las dietas inhibe la caries dental en los animales. El mecanismo de acción de los fosfatos no es muy claro. Varios fosfatos, capaces de inhibir la caries, tal como el ortofosfato, trimetafosfato, hexametafosfato y pirofosfato, pueden actuar

cada uno en forma distinta. El ortofosfato y el pirofosfato proporcionan mayor acción amortiguadora en la boca.

Además, el ortofosfato puede contrarrestar la desmineralización del diente por efecto del ión común, y reemplazar el carbonato y citrato con fosfato en la superficie del esmalte, promoviendo así la formación de minerales en el esmalte de poca solubilidad en los ácidos.

Las pruebas existentes, relativas a la eficacia de los fosfatos para prevenir la caries, indican que es un mecanismo local y no general. La administración de fosfatos por vía parenteral no produce ningún efecto anticariogénico. La comprensión del efecto que produce los fosfatos sobre la caries sería de valor práctico, ya que los fosfatos pueden incorporarse a las dietas humanas.

Gran parte del contenido en fosfatos de los alimentos se pierde al refinarlos, por lo que podría justificarse la adición de fosfatos a ciertos alimentos, tal como se justifica la adición de vitaminas a determinados alimentos si se descubre que se pierden durante el proceso de refinamiento. Por ejemplo, en un estudio con ratas, la adición de 2 por 100 de monohidrogenofosfato de calcio a cereal cubierto con azúcar redujo significativamente la caries dental.

Aún no se sabe si los fosfatos de la dieta afectan la flora bucal. Existe una correlación positiva entre las lesiones adamantinas y los estreptococos cuando los animales que reciben fosfatos se sacrifican después de 47 días, pero no existe correlación cuando se sacrifican después de 68 días.

ORIGEN MICROBIANO DE LA CARIES DENTAL.

El animal del laboratorio ha resultado útil para determinar el origen microbiano de la caries dental. Hasta hace poco se ignoraba si algún microorganismo específico causaba la caries. Después de numerosos estudios realizados en seres humanos y animales, se pensó que los organismos etiológicos pertenecían al género *Lactobacillus*.

Esta conclusión se basó en el hecho de que se aislaban mayor cantidad de lactobacilos de sujetos con caries que de sujetos sin caries. Sin embargo, lo único que se demostró fué que existía una asociación entre los lactobacilos y la caries; no existían pruebas que indicaran que los lactobacilos causaban la caries. Debido a que no se pudo relacionar ningún otro microorganismo o grupo de microorganismos con la caries, algunos investigadores pensaron que el lactobacilo era el agente etiológico. Otros pensaron que cualquier microorganismo relacionado con la placa dental, y capaz de formar ácidos a partir de carbohidratos, era capaz de producir caries.

Para diferenciar entre organismos cariogénicos y no cariogénicos, se utilizan 2 métodos. Uno se vale de la rata libre de gérmenes, el otro utiliza el criceto. La técnica de la rata libre de gérmenes fué perfeccionada por Reyniers en la universidad de Notre Dame, Notre Dame, Indiana.

El término "Gnotobiótico" se utiliza para designar a un animal portador de una flora microbiana conocida. También para animales libres de gérmenes. A los animales nacidos y criados en condiciones normales se les designa "Convencionales".

Las técnicas Gnotobióticas se han aplicado al estudio de la caries dental. En 1954, se demostró que la caries dental no se desarrollaba en animales criados libres de gérmenes, aunque la dieta utilizada en este estudio era capaz de producir caries en animales criados convencionalmente. Después se logró producir caries en animales libres de gérmenes inoculados con un enterococo y un bacilo proteolítico o con el mismo enterococo y una bacteria pleomórfica.

Después se descubrió que el enterococo era capaz de producir caries, cuando se mantenía como cultivo puro dentro del aislador.

En el hombre, la placa dental de personas que padecen caries contiene una proporción mayor de microorganismos capaces de producir polisacáridos yodifílicos que los de la placa de personas libres de caries. Este polisacárido, a base de glucosa, es intracelular y del tipo glucógeno-amilopectina. El almacenamiento del mismo puede ser importante, en lo que respecta a caries dental, ya que durante sus períodos de vigilia, los estreptococos son capaces de metabolizarlo formando ácido láctico.

Los estreptococos que son cariogénicos en experimentos con animales gnotobióticos, producen mayor cantidad de polisacáridos extracelulares, a partir de sacarosa, que algunos que no han demostrado ser cariogénicos. Este polisacárido se produce de sacarosa pero no de glucosa, maltosa, lactosa o fructosa. Los microorganismos que producen polisacáridos extracelulares de sacarosa también producen polisacáridos intracelulares a base de glucosa. Este polisacárido extracelular se adhiere a las paredes y al fondo de los recipientes utilizados para el cultivo, formando una masa gelatinosa.

Este material capsular puede ser la causa de la acumulación masiva de placa bacteriana que cubre los dientes de los animales inoculados con estreptococos cariogénicos. Sin embargo, la formación de la cápsula no siempre va asociada con la caries dental en ratas. La estructura anatómica de los molares de la rata, con sus fisuras angostas y profundas, permite la acumulación de alimentos que pueden fermentarse formando ácido y propiciando el desarrollo de la caries dental. Resulta más acertado asociar la formación de la cápsula con la aparición de caries sobre las superficies linguales y vestibulares que son más tersas.

Un polisacárido extracelular producido por bacterias cariogénicas se llama dextrán, un polímero de dextrosa. El dextrán es capaz de formar un complejo insoluble con la saliva que se adhiere a la superficie de los dientes. Este complejo no se disuelve fácilmente. Además, el dextrán es resistente a la hidrólisis por una población bacteriana mixta, derivada de muestras de placa y saliva.

El dextrán constituye el 2 por 100 del peso total seco de la placa. Por lo tanto, es posible que las bacterias productoras de dextrán desempeñen un papel importante en la formación de la placa.

Es posible que las bacterias productoras de dextrán atrapen a bacterias cariogénicas que no son formadoras de placa. Esto quizá explique por qué algunas bacterias acidogénicas son incapaces de provocar caries en sistemas de prueba gnotobióticos.

Contrario al dextrán, un polímero de la fructosa, el levan, aislado de *Streptococcus salivarius*, si-

es hidrolizado por las poblaciones bacterianas mixtas. - Sin embargo, se ha demostrado que los organismos de este tipo si producen caries.

CONCLUSIONES

Elaboré esta tesis con tema basado en Microbiología y Bioquímica Dental, pues es muy importante - conocer todas las reacciones que se llevan a cabo dentro de la cavidad bucal y la relación de los microorganismos en flora con los padecimientos buco-dentales se han hecho investigaciones con respecto a la etiología de la caries dental, que es un padecimiento que la mayor parte de la población la tiene, que desgraciadamente todavía no se ha llegado a la conclusión pues en el proceso de la caries no interviene un microorganismo específico sino que es una asociación de ellos mismos por eso la vacuna contra la caries dental está en experimentación con los animales del laboratorio además también nos han servido los animales para valorar la acción de los fluoruros y de los agentes anticariogénicos sin fluoruros, primero se experimenta con ellos y si da resultado entonces se aplica al hombre y si no pues se toma en cuenta lo investigado.

En cuanto a saliva y placa bacteriana aprendí muchas cosas como por ejemplo las alteraciones de la microflora durante la formación de placa y la comparación de la misma con los animales de laboratorio.

Así pues la elaboración de esta tesis me ha motivado a superarme cada vez más.

BIBLIOGRAFIA.

- | | |
|---|---|
| Microbiología general | William G. Walter
Richard H. Mc. Bee |
| Microbiología Odontológica | William A. Nolte |
| Bioquímica Dental | Eugene P. Lazzari |
| Trata general de Odontostomatología Tomo II | Wilhelm Meyer |
| Principios Generales de Microbiología | Nerberto J. Palleroni |
| Microbiología Bucal | Rode y Lahat Ricardo |