

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EL STRÉPTOCOCCUS MUTANS Y LA CARIES DENTAL

FRANCO MARTINEZ FERNANDO JAVIER

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

1978



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.

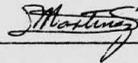
PRESIDENTE : OSCAR AMOR DODERO
VOCAL : LEONOR MARTINEZ SOTO
SECRETARIO : ELDA PENICHE QUINTANA
1er. SUPLENTE : OLGA VELAZQUEZ MADRAZO
2o. SUPLENTE : MARISOL LOPEZ LOPEZ

Sitio donde se desarrolló el tema: FACULTAD DE ODONTOLOGIA U. N. A. M.

FRANCO MARTINEZ FERNANDO JAVIER



LEONOR MARTINEZ SOTO



A MIS PADRES:

A MIS HERMANOS.

A MIS MAESTROS.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS.

AL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION
DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA.

Con especial agradecimiento al:

C.D. Msc. JAVIER PORTILLA ROBERTSON.

A la comprensión y colaboración del

H. JURADO.

I N D I C E

- I. INTRODUCCION.
- II. HISTORIA.
- III. DESCRIPCION DE UN DIENTE ADULTO.
- IV. CARIES DENTAL.
 - Definición.
 - Etiología.
- V. MECANISMOS DE LA CARIES DENTAL.
 - Introducción.
 - Teorías de la formación de caries.
 - Solubilidad del esmalte dental.
 - Efectos sobre la matriz orgánica.
 - Desintegración e invasión de los tejidos dentales por los microorganismos.
 - Localización del ácido y descenso del pH en la placa dental.
- VI. MICROORGANISMOS DEL PROCESO DE CARIES.
 - Lactobacilos.
 - Estreptococos.
 - Establecimiento, localización y transmisión de la flora cariogénica.
 - Animales de laboratorio para el estudio de la caries.
- VII. PREVENCIÓN Y ERRADICACIÓN DE LA CARIES DENTAL.
- VIII. STREPTOCOCCUS MUTANS.
 - Taxonomía.
 - Diferencias genéticas y bioquímicas entre los diferentes serotipos.
 - Distribución de los serotipos de S. mutans.
 - Cariogenicidad de los serotipos de S. mutans.

IX. MATERIAL Y METODOS.

- Material, reactivos y medios de cultivo.
- Procedimiento para la inoculación de placa dental humana en medio de Mitis-Salivarius-Agar.
- Fórmula de MSB para el cultivo selectivo de S. mutans de la placa dental humana.
- Procedimiento para la tinción de colonias de S. mutans desarrolladas en Mitis-Salivarius-Agar.
- Esquema bioquímico para la separación de cinco variedades de S. mutans.
- Preparación de los medios para la diferenciación metabólica (bioquímica) de S. mutans y el procedimiento para la inoculación de estos medios.

X. RESULTADOS.

XI. CONCLUSIONES.

XII. BIBLIOGRAFIA.

I. - INTRODUCCION.

La Microbiología en la Odontología, ocupa un lugar muy importante ya que una gran parte de las infecciones o padecimientos que se presentan en la cavidad oral son producidos por microorganismos. Uno de estos padecimientos de gran importancia e interés, es el de la caries dental.

La caries dental es uno de los padecimientos que la Humanidad ha padecido por años y años, a través de los cuales los Odontólogos dedicados a la investigación, han tratado de encontrar las causas de este mal con el objeto de encontrar la forma de liberar o proteger a la Humanidad.

Existen diferentes teorías acerca de la etiología de la caries dental, de las cuales las más aceptadas indican que los microorganismos desempeñan un papel muy importante en el proceso de la caries.

El Cirujano Dentista se encarga de restaurar, cuando es posible, la destrucción que se produce en las piezas dentales como consecuencia del proceso carioso.

En la investigación del problema pueden intervenir, además del Cirujano Dentista, los Microbiólogos, los Inmunólogos, los Bioquímicos, etc.

Este estudio permite darse cuenta de las diferentes teorías que existen respecto a la caries, de los adelantos logrados en las múltiples investigaciones hasta ahora realizadas, de las características del microorga

nismo ligado directamente con la caries y deja ver la gran cantidad de estudios que aún faltan por realizarse para poder aclarar plenamente y encontrarle una solución satisfactoria al problema.

Un primer paso esencial en la producción de la caries parece ser la formación de una placa sobre la dura superficie lisa del esmalte. La placa consiste principalmente de depósitos gelatinosos de dextrana de elevado peso molecular y de levanas en las cuales las bacterias productoras de ácido se adhieren al esmalte. Los polímeros dextrana y levanas son producidos por los Streptococcus mutans a partir de la sacarosa y otros azúcares como sustrato. Hay una fuerte correlación entre la presencia de S. mutans y las caries sobre zonas específicas del esmalte. La segunda etapa esencial en la producción de las caries es la formación de gran cantidad de ácido a partir de los carbohidratos por los estreptococos en especial S. mutans y los lactobacilos en la placa.

II. - HISTORIA.

El nombre de Streptococcus mutans deriva de un reporte de J. K. Clarke, en 1924 en Inglaterra, quien aisló el estreptococo de una lesión de caries dental en Humanos. El hecho básico de que el organismo asumía varios tipos morfológicos, que van del coco al de bacilo, depende del tiempo que se incubaron en caldo glucosado, él llamó al organismo Streptococcus mutans.

Unos años más tarde, en 1927, McLean confirmó el reporte de -- Clarke respecto a que S. mutans estaba presente en el 70% de varios tipos de lesiones careosas. Ni Clarke ni McLean definieron al organismo muy bien, sólo las características bioquímicas que eran concernientes, desde entonces ninguno de los cultivos han sido preservados, su relación con los que ahora llamamos Streptococcus mutans no está muy clara. Un desarrollo interesante sucedió en 1928, cuando Abercrombie y Scott describieron un organismo en casos fatales de endocarditis remarcado S. mutans de -- Clarke. Ellos pudieron obtener el tipo original de Clarke y el hecho se -- confirmó bioquímica, serológica y morfológicamente, sus organismos fueron los mismos que S. mutans de Clarke.

En los siguientes 20 años S. mutans desapareció virtualmente de la literatura científica.

Entonces en 1950 Sims depositó un cultivo que llamó S. mutans en la Colección Nacional de Cultivos Tipo en Gran Bretaña, como cepa - - -

10449; como sea, el organismo volvió a desaparecer durante los siguientes 12 años aproximadamente.

En 1960, el Instituto Nacional de Investigación Dental reportó la inducción de caries en ratas libres de gérmenes y en un tipo especial de hamsters albinos, se aislaron dos tipos de estreptococos de ratas y hamsters -- con caries activa. Los organismos pudieron separarse en colonias diferentes morfológicamente y en grupos serológicos, pero virtualmente tenían -- unas características bioquímicas idénticas.

En 1965, Zinner y colaboradores aislaron organismos de caries -- dental humana, que correspondían, bioquímica, morfológica y serológicamente con los obtenidos en 1960 en los hamsters y ratas, con actividad cariogénica: Zinner y colaboradores pudieron inducir caries en hamster libres de gérmenes.

En 1966, Gibbons reportó una cepa que llamó GS-5, ésta fue serológicamente diferente a la de la rata y el hamster. Encontrando que esta nueva cepa era capaz de inducir caries en animales gnotobióticos.

Numerosos investigadores, tanto en Europa como U. S. A., continuaron aislando estos microorganismos, encontrando que todos éstos requieren de una dieta alta en sacarosa para la máxima actividad cariogénica.

En 1967 y 1968, en Suiza y Suecia, comenzaron más intensamente a trabajar sobre el status taxonómico del microorganismo, éste se llamó -- simplemente estreptococo cariogénico.

Finalmente Carlsson, Edwardsson y Guggenheim descubrieron que sus cepas de estreptococos, tenían similitud con el S. mutans encontrado por Clarke en 1924 y decidieron dejar y adoptar el nombre de S. mutans -- que había sido descrito 40 años antes, en lugar de simplemente estreptococo cariogénico.

III. DESCRIPCION DE UN DIENTE ADULTO.

Los dientes (Fig. I-1) pueden definirse como estructuras individuales consistentes en una fina capa externa de esmalte derivada del ectodermo, una capa media más gruesa de dentina, derivada del mesodermo, el cemento que cubre la raíz anatómica del diente, y una pulpa interna.

ESMALTE

El esmalte es una sustancia que cubre a la corona de un diente, es de una dureza extraordinaria debido a su alto contenido de material inorgánico y bajo contenido de material orgánico. También es duro debido a su arreglo estructural.

DENTINA

La dentina es un tejido conjuntivo calcificado que constituye el bulbo o corpulencia del diente. El componente orgánico de la dentina consiste principalmente de colágena y de mucopolisacáridos; el componente inorgánico, como en la mayoría de otros tejidos calcificados del cuerpo humano, consiste en hidroxapatita.

El volumen de las fibras colágenas en la dentina están dispuestas perpendicularmente a los túbulos dentinarios.

CEMENTO

El cemento es un tejido que se parece al hueso y que cubre la superficie de la raíz anatómica del diente. Sirve como mediador para que el ligamento periodontal se adhiera al diente en su alrededor al hueso al-

veolar.

PULPA

Histológicamente, la pulpa ha sido descrita como "tejido conectivo primitivo". Contiene relativamente pocas células: fibroblastos que tienen a su cargo la producción de fibras, células mesenquimatosas, que posiblemente estén encargadas de la producción de mucopolisacáridos e histiocitos que intervienen en mecanismos de defensa. Entre estas células están dispersos unos cuantos elementos vasculares, nervios y canales linfáticos. Entre las células hay una red de fibras, mayormente colágenas. Todos estos elementos formados están en suspensión en la sustancia fundamental compuesta de líquido de pulpa de origen vascular.

Las funciones de la pulpa son:

1. Arquitectónica - La elaboración de fibras colágenas y de dentina.
2. Nutritiva - nutrición de las fibras nerviosas y dentina.
3. Sensorial - Fuente de receptores de dolor.
4. Protectora - por inflamación y por formación secundaria de dentina.

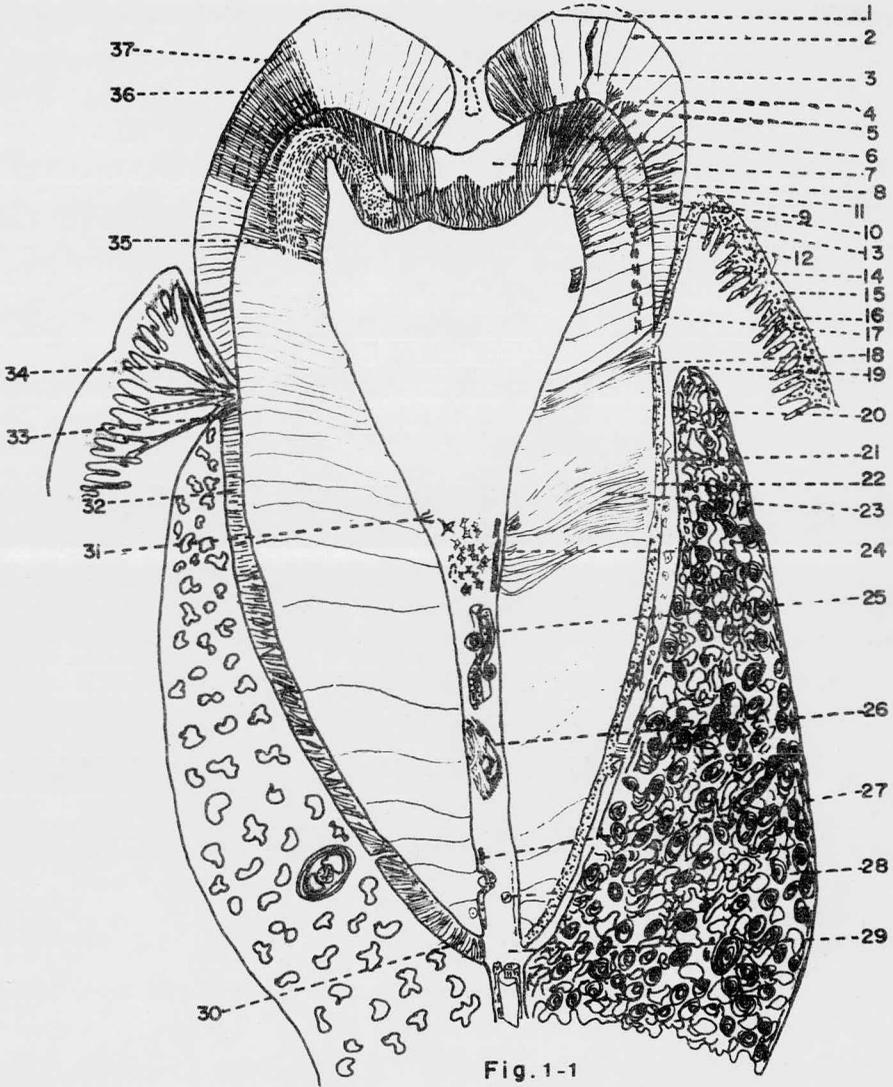


Fig. 1-1

1. - Atrición.
2. - Barra del esmalte.
3. - Laminilla del esmalte.
4. - Fosa de esmalte.
5. - Mecha de esmalte.
6. - Dentina esclerosada.
7. - Dentina careada de la espina de pulpa.
8. - Dentina integlobular.
9. - Esmalte nudoso.
10. - Dentina reparativa.
11. - Cresta gingival.
12. - Cuerno pulpar.
13. - Surco gingival.
14. - Clavos epiteliales.
15. - Encia libre.
16. - Encia unida.
17. - Unión dentina esmalte.
18. - Cemento acelular.
19. - Cresta alveolar.
21. - Cementoblasto.
22. - Area granular de thomes.
23. - Dentina primaria.
24. - Fibroblastos.

25. - Fibras nerviosas.
26. - Nódulo pulpar.
27. - Odontoblastos.
28. - Dentículo libre.
29. - Foramen apical.
30. - Fibras apicales.
31. - Fibras Von Korff.
32. - Fibras horizontales.
33. - Fibras de la cresta alveolar.
34. - Fibras gingivales.
35. - Líneas de Owen.
36. - Estrias de Retzius.
37. - Periquimato.

IV. - CARIES DENTAL.

A) Definición.

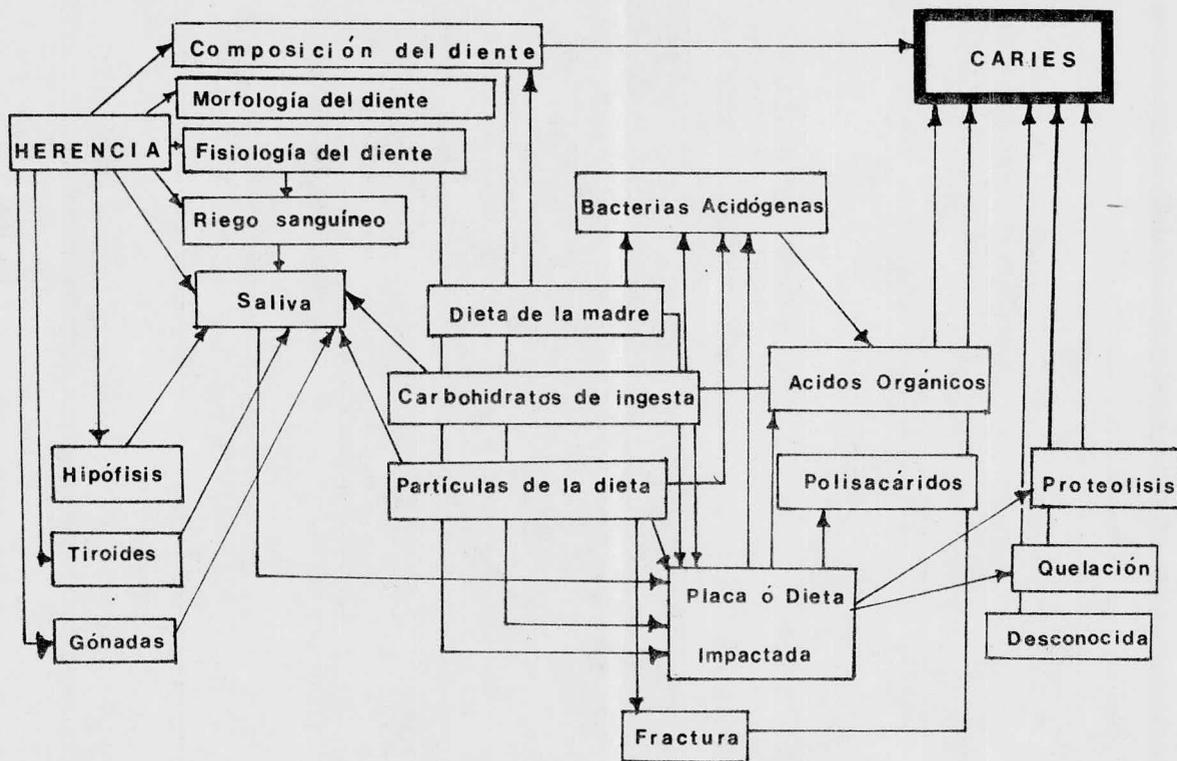
La caries dental es una enfermedad bacteriana de los tejidos dentales duros y ocurre en ciertas zonas de los dientes. Estas zonas son en orden de frecuencia, las fosas o depresiones de los dientes y las fisuras, particularmente las superficies oclusivas de los dientes, las superficies adyacentes de contacto y las superficies labiales, bucales y linguales de los dientes situados en forma adyacente a las encías. Estas zonas que no reciben la acción limpiadora de la saliva, la lengua y la musculatura bucal, son los lugares en que se almacenan partículas de alimentos, bacterias, proteínas salivales y otros detritos bucales. Estos depósitos de bacterias y proteínas, que tienen propiedades adhesivas y que están sueltos en estas regiones que no se limpian por sí mismas, se designan como placa dental, sin la cual no se puede producir la caries.

B) Etiología.

La caries dental tiene, indudablemente, una etiología multifactorial.

En la figura I-2 se muestra la interrelación de todos los factores que con toda seguridad intervienen; no están incluidos, sin embargo, todos los factores conocidos ni teóricos. En el diagrama, cada flecha representa una situación de causa y efecto, y apunta de una causa hacia un efecto. Por ejemplo, las bacterias acidogénicas producen ácidos orgánicos que -- descalcifican el esmalte, produciendo así una lesión cariosa incipiente o --

inicial. Muchas de las flechas causales están justificadas por estudios experimentales, pero algunas son hipotéticas, especialmente aquellas que se originan en la herencia. Ciertas relaciones están mejor establecidas que otras. Por ejemplo, existen más pruebas apoyando el concepto de que las bacterias acidogénicas inician la caries dental que las que apoyan el concepto de iniciación de la caries mediante proteólisis; algunas de las relaciones expuestas están basadas en experimentos con ratas albinas de Noruega, mientras que otras están basadas en observaciones en seres humanos y cetos.



INTERRELACION DE CIERTOS FACTORES ETIOLÓGICOS DE
LA CARIES DENTAL.

Fig.1-2

V. MECANISMOS DE LA CARIES DENTAL.

INTRODUCCION.

El esmalte, la sede primaria de la lesión de caries, es el más duro de todos los tejidos humanos. Cuando está formado por completo, es acelular, avascular, aneural y completamente desprovisto de facultades de autorreparación.

Patológicamente, la caries comienza como una desmineralización superficial del esmalte, la cual progresa a lo largo del curso radial de los prismas del esmalte y llega a la unión dentina-esmalte. En esta unión, la caries se extiende lateralmente y hacia el centro en la dentina subyacente y asume una configuración cónica con el ápice hacia la pulpa. Los túbulos dentinales quedan infiltrados de bacterias y se dilatan a expensas de la matriz interyacente. Se forman focos de licuefacción por la coalescencia y destrucción de túbulos adyacentes. El ablandamiento de la dentina precede a la desorganización y decoloración que culmina en la formación de una masa caseosa o correosa.

Una mayor desintegración disminuye las cúspides y tejido sano, con lo cual se producen fracturas secundarias y ensanchamiento de la cavidad. Si se abandona a sí misma, la caries finalmente se extiende a la pulpa y destruye la vitalidad del diente.

TEORIAS DE LA FORMACION DE CARIES.

Se han propuesto varias teorías para explicar el mecanismo de la

caries dental. Todas ellas están cortadas a medida para ajustarlas a la forma creada por las propiedades químicas y físicas del esmalte y la dentina. Algunas mantienen que la caries surge del interior del diente; otras, que tiene su origen fuera de él. Algunos autores adscriben la caries a defectos estructurales o bioquímicos en el diente; otras a un ambiente local propicio. Ciertos investigadores incriminan la matriz orgánica como el punto inicial de ataque; otros consideran que los puntos iniciales de ataque son los prismas o barras inorgánicas. Algunas de las teorías han obtenido amplia aceptación, mientras que otras han quedado relegadas a sus ávidos y tenaces progenitores.

Las teorías más prominentes son la químicoparasítica, la proteolítica y la que se basa en conceptos de proteólisis-quelación.

Las teorías endógenas, del glucógeno, organotrópica y biofísica representan algunas de las opiniones minoritarias que existen en el presente.

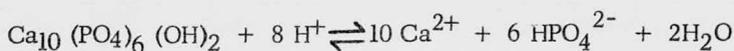
TEORIA QUIMICOPARASITICA.

Esta teoría fue formulada por Miller, quien en 1882 proclamó que la desintegración dental es una enfermedad quimioparasítica constituida por dos etapas netamente marcadas: descalcificación o ablandamiento del tejido y disolución del residuo reblandecido. Sin embargo, en el caso del esmalte, falta la segunda etapa, pues la descalcificación del esmalte significa prácticamente su total destrucción. La causa era interpretada como

sigue..... "todos los microorganismos de la boca humana que poseen el poder de excitar una fermentación ácida de los alimentos, pueden tomar parte y de hecho la toman, en la producción de la primera etapa de la caries dental y todos los que poseen una acción peptonizante o digestiva sobre sustancias albuminosas pueden tomar parte en la segunda etapa".

Recientemente, Fosdick y Hutchinson pusieron de actualidad la teoría de que la iniciación y el progreso de una lesión de caries requieren la fermentación de azúcares en el sarro dental o debajo de él, y la producción in situ de ácido láctico y otros ácidos débiles. La caries fue identificada con una serie específica de reacciones basadas en la difusión de sustancias por el esmalte. La penetración de caries fue atribuida a cambio en las propiedades físicas y químicas del esmalte durante la vida del diente y a la naturaleza semipermeable del esmalte en el diente vivo.

La captura de iones de hidrógeno de sustancias difusas ácidas, con la formación de agua y fosfatos solubles, destruye la membrana del esmalte.



TEORIA PROTEOLITICA.

Los proponentes de la teoría proteolítica con sus varias modificaciones miran la matriz del esmalte como la llave para la iniciación y penetración de la caries dental. El mecanismo se atribuye a microorganismos que descomponen proteínas, los cuales invaden y destruyen los elementos

orgánicos de esmalte y dentina. La digestión de la materia orgánica va seguida de disolución física, ácida, o de ambos tipos, de las sales inorgánicas.

Gottlieb sostuvo que la caries empieza en las láminillas de esmalte o vainas de prismas sin calcificar, que carecen de una cubierta cuticular protectora en la superficie. El proceso de caries se extiende a lo largo de estos defectos estructurales a medida que son destruidas las proteínas por enzimas liberadas por los organismos invasores. Con el tiempo, los prismas calcificados son atacados y necrosados. La destrucción se caracteriza por la elaboración de un pigmento amarillo que aparece desde el primer momento en que está involucrada la estructura del diente. Se supone que el pigmento es un producto metabólico de los organismos proteolíticos. En la mayoría de los casos, la degradación de proteínas va acompañada de producción restringida de ácidos. En casos raros la proteólisis sola puede causar caries.

El principal apoyo a la teoría proteolítica procede de demostraciones histopatológicas de que algunas regiones del esmalte son relativamente ricas en proteínas y pueden servir como avenidas para la extensión de la caries. La teoría no explica ciertas características clínicas de la caries dental, como su localización en lugares específicos del diente, su relación con hábitos de alimentación y la prevención dietaria de la caries. Tampoco explica la producción de caries en animales de laboratorio o por dietas ri-

cas en carbohidratos ni la prevención de la caries experimental por inhibidores glucolíticos. No se ha demostrado la existencia de un mecanismo que muestre como la proteólisis puede destruir tejido calcificado, excepto por la formación de productos finales ácidos.

Asimismo, no hay pruebas químicas de que exista una pérdida temprana de materia orgánica en la caries del esmalte, como tampoco se han aislado de manera consecuente formas proteolíticas de lesiones tempranas del esmalte.

En contraste, se ha hallado que antes de que puedan despolimerizarse e hidrolizarse las proteínas del diente en general, y las glucoproteínas en particular, es necesario desmineralización para dejar expuestos los enlaces de proteína unidos a la fracción inorgánica.

TEORIA DE PROTEOLISIS-QUELACION.

Schatz y colaboradores ampliaron la teoría proteolítica a fin de incluir la quelación como una explicación de la destrucción concomitante del mineral y la matriz del esmalte.

La teoría de la proteólisis-quelación atribuye la etiología de la caries a dos reacciones interrelacionadas y que ocurren simultáneamente: destrucción microbiana de la matriz orgánica mayormente proteinada y pérdida de apatita por disolución, por la acción de agentes de quelación orgánicos, algunos de los cuales se originan como productos de descomposición de la matriz.

El ataque bacteriano se inicia por microorganismos queratolíticos, los cuales descomponen proteínas y otras sustancias orgánicas en el esmalte. La degradación enzimática de los elementos proteínicos y carbohidratos de sustancias que forman quelatos con calcio insoluble. La quelación puede causar a veces solubilización y transporte de materia mineral de ordinario insoluble.

Se efectúa por la formación de enlaces covalentes coordinados e interacciones electrostáticas entre el metal y el agente de quelación:



Los agentes de quelación de calcio, entre los que figuran, aniones ácidos, aminas, péptidos, polifosfatos y carbohidratos, están presentes en alimentos, saliva y material de sarro, y por ello se concibe puedan contribuir al proceso de caries.

La teoría sostiene también que, puesto que los organismos proteolíticos son en general más activos en ambiente alcalino, la destrucción del diente puede ocurrir a un pH neutro o alcalino. La microflora bucal productora de ácidos, en vez de causar caries protege en realidad los dientes por dominar e inhibir las formas proteolíticas.

Hay serias dudas en cuanto a la validez de algunas de las premisas básicas de la teoría de proteólisis-quelación. Aunque el efecto solubilizante de agentes de quelación y de formación de complejos sobre las sales de calcio insolubles en un hecho bien documentado, no se ha mostrado

que ocurra un fenómeno similar en el esmalte in vivo.

Los organismos queratolíticos no forman parte de la flora bucal, o de modo excepcional se encuentran como transeúntes ocasionales. La proteína del esmalte es extraordinariamente resistente a la degradación microbiana. No se ha mostrado que bacterias que atacan queratinas, destruyan la matriz orgánica del esmalte. Un examen de las propiedades bioquímicas de 250 bacterias proteolíticas bucales, no cubre ninguna que pueda atacar el esmalte no alterado. Jenkins sostiene que la proporción de materia orgánica en el esmalte es tan pequeña que, aún cuando toda ella fuera convertida súbitamente en agentes de quelación activos, estos productos no podrían disolver más que una fracción diminuta de la apatita del esmalte.

Además, tampoco hay pruebas convincentes de que las bacterias del sarro pueden, en el ambiente natural que presumiblemente está saturado de fosfato cálcico, atacar la materia orgánica del esmalte antes de haber ocurrido descalcificación. Al igual que la teoría proteolítica, la teoría de proteólisis-quelación no puede explicar la relación entre la dieta y la caries dental, ni en el hombre ni en los animales de laboratorio.

TEORIA ENDOGENA.

Fue propuesta por Csernyei, quien aseguraba que la caries era resultado de un trastorno bioquímico que comenzaba en la pulpa y se manifestaba clínicamente en el esmalte y la dentina. El proceso se precipita por una influencia selectiva, localizada, del Sistema Nervioso Central o algunos de sus núcleos, sobre el metabolismo de magnesio y flúor de dientes individuales. Esto implica que la caries afecte ciertos dientes y respete

otros.

El proceso de caries es de naturaleza pulpógena y emana de una perturbación en el balance fisiológico entre activadores de fosfatasa (magnesio) e inhibidores de fosfatasa (flúor) en la pulpa. En el equilibrio, la fosfatasa de la pulpa actúa sobre glicerofosfatos y hexosafosfatos para formar fosfato cálcico. Cuando se rompe el equilibrio, la fosfatasa de la pulpa estimula la formación de ácido fosfórico, el cual, en tal caso, disuelve los tejidos calcificados.

Egger-Lura está en desacuerdo en cuanto a la fuente y mecanismos de acción de la fosfatasa. Como la caries ataca por igual a dientes con pulpa viva o pulpa muerta, el origen de la enzima no ha de provenir del interior de la pulpa sino fuera del diente, esto es, de la saliva o de la flora bucal. La fosfatasa disuelve el esmalte del diente por desdoblar las sales fosfato y no por descalcificación ácida.

Sin embargo, la relación entre la fosfatasa y la caries dental no ha sido confirmada experimentalmente.

TEORIA BIOFISICA.

Neumann y Di Salvo desarrollaron la teoría de la carga, para la inmunidad a la caries, basada en la respuesta de proteínas fibrosas a esfuerzo de compresión. Postularon que las altas cargas de la masticación producen un efecto esclerosante sobre los dientes, independientemente de la acción de atricción o detergente. Los cambios escleróticos se efectúan

presumiblemente por medio de una pérdida continua de agua de los dientes, conectado posiblemente con un despliegue de cadenas de polipéptidos o un empaquetamiento más apretado de cristalitas fibrilares. Los cambios estructurales producidos por compresión, se dice que aumentan la resistencia del diente a los agentes destructivos de la boca. La validez de esta teoría no ha sido comprobada aún, a causa de las dificultades técnicas que han impedido someter a prueba el concepto de esclerosis por compresión en el esmalte humano.

SOLUBILIDAD DEL ESMALTE DENTAL.

Todas las teorías que preceden acerca de la formación de caries, están de acuerdo en que la enfermedad implica disolución del esmalte dental. Los puntos de controversia son el lugar inicial y la forma en que el método de destrucción se lleva a cabo. Pruebas procedentes de estudios morfológicos, biofísicos y bioquímicos cuidadosamente controlados, apoyan abundantemente la conclusión de que, en la caries en desarrollo, el esmalte se vuelve soluble antes de perder la matriz. Mediciones directas de pH indican que la disolución producida por la caries, ocurre en ambiente ácido, -- hay ácido presente que puede determinarse en pequeñas cantidades en todas las etapas y a todas las profundidades de la lesión de caries.

Cuando se mide el pH in situ en el estado de reposo, con un microelectrodo de antimonio, su valor es en promedio de 5.5. Hay un retorno al estado de acidez en la lesión, incluso después de repetido amortiguamiento porque el ácido se forma continuamente o en las profundidades de la lesión

hay una gran reserva de ácido que se difunde constantemente a la superficie.

Brudevold enumera como sigue las pruebas que sugieren que la caries del esmalte es principal y primariamente un proceso de desmineralización: 1) los cambios morfológicos característicos de las lesiones iniciales, pueden reproducirse en esmalte sano cuando se ataca por ácidos débiles; 2) no se ha demostrado la degradación bacteriana de la matriz orgánica en esmalte intacto; 3) la matriz de esmalte desmineralizado es tan frágil que se destruye fácilmente por traumatismos mecánicos, lo que evita la necesidad de postular la degradación de la matriz.

La premisa básica de la teoría química-parasítica de que los ácidos causantes de la desmineralización del esmalte son de origen bacteriano, está apoyada por una serie impresionante de datos experimentales y clínicos. La prueba de que los microorganismos son esenciales en el proceso de caries se encuentra en demostraciones de que, animales "exentos de gérmenes", no desarrollan destrucción dental cuando se alimentan con una dieta estimulante de la caries en condiciones estériles. Análisis bacteriológicos de los sarros dentales que recubren los lugares de caries del esmalte, muestran invariablemente predominio de organismos acidógenos y acidúricos. En presencia de un substrato adecuado, estos organismos producen ácidos en cantidad tal que atraviesan el esmalte y disuelven el elemento mineral.

El sarro está compuesto de una matriz proteínica a la cual se in-

corporan partículas de alimento finamente divididas, residuos de mucina y células epiteliales descamadas así como varios microorganismos y sus metabolitos.

El sarro es permeable a la glucosa y a la sacarosa, pero relativamente impermeable al almidón. Contiene los sistemas enzimáticos necesarios para la conversión de carbohidratos fermentables en productos finales ácidos. Determinaciones intrabucales directas del pH del sarro humano, - revelan que la acidez del sarro llega a niveles capaces de disolver la es- - tructura del diente en el intervalo de cuatro minutos después de introducir en la boca una solución de ensayo que contiene glucosa.

El pH del sarro capaz de desmineralizar, se mantiene durante 30 a 45 minutos aproximadamente, antes de regresar a los valores anteriores al ensayo.

Estos estudios indican que la formación de ácido en el sarro es un proceso discontinuo, con períodos de actividad relacionados directamente con la frecuencia con la cual se introducen carbohidratos fermentables - - en la cavidad bucal.

Muchos informes muestran que la frecuencia de caries dental en individuos susceptibles, se presenta en proporción directa con la cantidad, forma y frecuencia de ingestión de carbohidratos de origen dietario, - pues la saliva humana recién secretada sólo contiene cantidades despreciables de carbohidratos cualquiera que sea el nivel de azúcar en sangre.

Los carbohidratos salivales están enlazados a proteínas, principalmente en forma de los glucopéptidos, sialomucinas y fucomucinas, los cuales son resistentes a la degradación por acidógenos bucales.

EFECTO SOBRE LA MATRIZ ORGANICA.

Como postuló Miller, una vez que la caries entra en la dentina, el proceso es a la vez de descalcificación y proteolisis. La confirmación de este hecho procede de estudios de las poblaciones bacterianas de lesiones de caries. En la caries de la dentina, la composición microbiana difiere de modo significativo de la de la caries del esmalte. Hay una dicotomía de predominio asociada con la profundidad de la lesión dentinal. La penetración más profunda contiene preponderancia de formas acidúricas con ausencia virtual de organismos dentinolíticos.

Las bacterias capaces de hidrolizar los residuos orgánicos de dentina descalcificada están concentradas en las partes superficiales de la lesión. La distribución microbiana sugiere que en la caries dentinal, al igual que en la del esmalte, la descalcificación precede a la proteólisis.

Estudios histológicos demuestran, asimismo, que la proteólisis de la matriz orgánica insoluble, ocurre sólo después de bien establecida la desmineralización.

A causa de dificultades técnicas, los estudios de los cambios en las propiedades y la composición de la matriz orgánica asociados a la caries, se han restringido de ordinario a la dentina. Armstrong clasificó -

estos cambios como sigue: 1) reducción en las concentraciones de arginina, histidina, hidroxilisina, prolina e hidroxiprolina; 2) aumento en las cantidades de fenilalanina, tirosina y metionina; 3) modificación de los residuos de aminoácidos básicos en la matriz intacta; 4) adquisición de resistencia al ataque por colagenasa; 5) formación de una pigmentación parda característica; 6) pérdida aparente de actividad de fluorescencia, y 7) cantidades aumentadas de carbohidratos enlazados, en particular en la fracción completamente resistente a colagenasa. Se cree que estas alteraciones son resultado de una combinación de degradación proteolítica del colágeno dental por colagenasas bacterianas, formación de un complejo dentina-carbohidrato entre la proteína dental y carbohidratos o sustancias afines y contaminación de la matriz residual por proteína no colagenosa.

La microscopía de polarización y técnicas de impregnación usadas para investigar la bioquímica de los espacios de las vainas en la caries, proporcionan más pruebas de que la enfermedad es esencialmente un proceso de lixiviación de componentes inorgánicos inducidos por ácidos.

Debido a la gran cantidad de datos que apoyan la teoría de la descalcificación ácida y la virtual ausencia de datos que apoyen las teorías proteolíticas, y esta es la razón por la que estas últimas ahora han recibido poca atención por parte de los investigadores.

El apoyo de la teoría de la descalcificación ácida no era muy unilateral cuando se observó histológicamente que la porción orgánica del esmalte perdía detalle estructural antes de la presencia de microorganismos in-

vasores. Sin embargo, cuando se mostró que la matriz del esmalte contiene proteínas solubles en ácido, se eliminó la principal objeción a la teoría de la descalcificación ácida, es decir, que la descalcificación ácida precede a la proteólisis.

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. Los microorganismos en el borde de la lesión de caries son cocos 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.

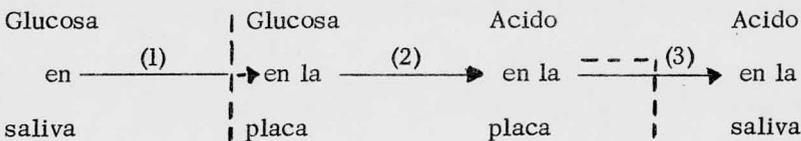
Las capas más profundas de la lesión activa en la dentina casi siempre son estériles, y hasta que la lesión de caries ha alcanzado una fa

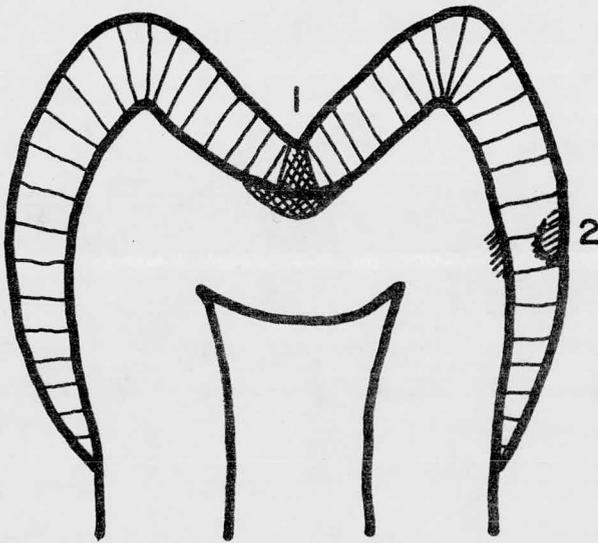
se tardía las bacterias entran a la pulpa dental.

LOCALIZACION DEL ACIDO Y DESCENSO DEL pH EN LA PLACA DENTAL.

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 en un período corto; 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 la que se difunde la saliva a partir de la placa, se acumula el ácido en la placa.





1 y 2 ZONAS DE CARIES

Fig. 1-3

VI. - MICROORGANISMOS DEL PROCESO DE CARIES.

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

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 2.5×10^{11} bacterias por gramo, mientras que la cuenta total cultivable hecha en forma anaerobia y aerobia es aproximadamente 7.1×10^{11} microorganismos por gramo lo que hace pensar que una gran parte o 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 de microorganismos en la placa son: estreptococos facultativos, 27 por 100; difteroides facultativos, 23 por 100; difteroides anaerobios, 19 por 100; peptoestreptococos, 13 por 100; fusobacterias, 4 por 100; neisseria, 3 por 100; y vibrios, 2 por 100; lactobacilos están presentes a un nivel de menos de 0.01 por 100.

LACTOBACILOS.

La cuenta de lactobacilos está relacionada con la edad del individuo. En niños hasta de 8 años de edad estos microorganismos están pre--

sentes en aproximadamente 35 por 100 de las bocas; en gente joven entre 8 y 20 años de edad, están presentes en 85 a 95 por 100; y en personas mayores de 20 años de edad, la frecuencia es aproximadamente de 50 por 100.

En bocas desdentadas prácticamente no existen sitios de retención, y las cuentas de lactobacilos son extremadamente bajas, o de cero. Una vez que los dientes brotan en el niño, o 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. 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 flúor es óptimo; las cuentas altas han sido atribuidas a la presencia de mayor número de sitios de retención.

Como estos microorganismos son acidúricos, es decir, con un pH bajo (comúnmente de 5,0) que favorece su crecimiento, entonces sólomente aquellos sitios en la boca donde el pH puede permanecer bajo por periodos 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. Como estos sitios son los más ácidos de la boca y donde ocurre la 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 la caries, sino que más bien indica la presencia de condiciones que favorecen 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 son la "causa" de la caries dental.

ESTREPTOCOCOS.

De los microorganismos de la boca tanto los estreptococos acidúricos, como los lactobacilos, crecen en medio ácido y comprenden los grupos hemolítico, láctico, y de enterococos. De los estreptococos restantes, S. mutans y S. salivarius han recibido la mayor atención en el papel de los estreptococos en el proceso de la caries, S. salivarius, la cepa predominante de estreptococos en la lengua y otros tejidos blandos de la boca, puede producir lesiones similares a la caries in vitro y existen algunos datos de que hay una relación entre la frecuencia de este microorganismo y la caries dental. Sin embargo, en la placa dental la frecuencia de este microorganismos es muy baja.

S. mutans, por otra parte se encuentra con más frecuencia y en -

números mucho mayores en la placa dental que S. salivarius; el primero es el tipo predominante entre los microorganismos de la placa que son capaces de almacenar polisacáridos, propiedad que permite que la placa forme ácido cuando menos durante un corto tiempo después de que ya no se dispone de carbohidratos extracelulares. El número de estreptococos que existen sólo en la placa es mayor en forma importante en el grupo de caries activa.

Los individuos con caries activa, además de tener mayor número de estreptococos por miligramo de placa, también tiene incidencia mayor de Candida en la placa y en la saliva, y mayor frecuencia de Veillonella y 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 de ácido y por lo tanto, menores niveles de pH en la placa en respuesta a los carbohidratos de la dieta en individuos con caries activa.

FLORA CARIOGENICA: ESTABLECIMIENTO, LOCALIZACION Y TRANSMISION.

En los años recientes se ha obtenido considerable información de la secuencia cronológica de la aparición de diferentes tipos de bacterias en la boca. Actualmente se ha aprendido mucho acerca de las interacciones en la dieta bacteriana que regulan sus implantaciones, así como la afinidad por los tejidos que determinan su localización en diferentes partes -

de la boca.

De aquí ha emergido un incremento detallado en el desarrollo y conservación de la flora oral, como un entendimiento claro de los mecanismos biológicos involucrados.

ESTABLECIMIENTO. ✓

Un número de estudios han documentado la temprana aparición de bacterias en infantes, tan solo unas horas después del nacimiento ya se han establecido las bacterias que dominarán en la vida temprana y que son los estreptococos. S. salivarius se detectó en un 75% de los infantes de 1 a 5 días de edad. Carlsson cultivó S. salivarius de la boca de los infantes de un día de edad, quienes fueron alimentados únicamente con soluciones de glucosa, sacarosa ó agua antes de ingerir leche. Estos trabajos también mostraron que S. sanguis no se establece en la boca antes de la erupción dentaria. Ellos no detectaron S. mutans durante el primer año de infancia; Catalanotto reportó que S. mutans estaba presente en la dentición primaria, particularmente cuando los molares han erupcionado se notó una correlación positiva entre la presencia de S. mutans y caries dental en las superficies lisas en la dentición de niños entre los 37 y 54 meses.

El desarrollo de un medio selectivo recomendable para S. mutans, ha permitido una determinación más precisa del tiempo de aparición de S. mutans, en relación con el desarrollo de la dentición primaria. Usando esta técnica más sensible, ha sido posible mostrar que el estreptococo mutans puede ser detectado en niños tan pronto como los incisivos han erup-

cionado, pero no en infantes pre-dentados. Como S. mutans se aisló en -- dos de diez infantes pre-dentados con paladar hendido quienes usaron obtu-- radores acrílicos, aparentemente requiere de una superficie para su coloni-- zación y esto no puede obtenerse regularmente hasta que los dientes se ha-- cen presentes en la boca.

Microorganismos como S. salivarius, S. mitis, S. sanguis y en-- terococos, se establecen fácilmente en animales libres de gérmenes, pe-- ro es muy difícil su implantación en animales convencionales. Se conoce -- que estos organismos se hacen presentes rápidamente cuando se introdu-- cen experimentalmente en la cavidad oral.

Sin embargo, en contraste, S. mutans usualmente puede implan-- tarse en ambos, animales libres de gérmenes y animales convencionales, -- quizá porque se dió una ventaja selectiva de proveer a este microorganismo de una dieta de sacarosa.

Krasse implantó S. mutans resistentes a la estreptomycinina en la -- boca de estudiantes dentales, con variados grados de éxito y por perfodos -- de hasta 300 días, frecuentemente la ingestión de sacarosa favoreció en -- forma gradual la persistencia del microorganismo.

Patrones de implantación similares a éste, se observaron en un -- grupo de mujeres que fueron infectadas con S. mutans resistente a la es-- treptomycinina, derivados de su propia flora oral.

Hay dos posibilidades para las dificultades encontradas en el esta--

blecimiento de la bacteria oral en competencia con una flora existente; una puede ser la relacionada con el problema de introducir un organismo en un nicho ecológico que se encuentra ya ocupado por organismos similares o idénticos, en esta instancia, la competencia de la flora indígena puede ser reducida por tratamiento al huésped con antibióticos, resultando un aumento en la implantación. La otra posibilidad es que para que la infección sea establecida, es importante que se introduzca el microorganismo en un número suficiente. Comúnmente puede ser que una exposición previa del huésped a un microorganismo o una reacción cruzada, induzcan al desarrollo de una inmunidad protectora suficiente para prevenir el establecimiento de una nueva infección en el organismo.

Los cambios en la flora oral, pueden ser por la variación de la ingestión de la dieta de carbohidratos, un incremento drástico en la ingestión de azúcar en la boca permite un incremento en la proporción de bacterias acidogénicas en la placa. Al final el resultado de la microflora de la placa es un incremento en el potencial cariogénico.

LOCALIZACION.

Se han determinado lugares de colonización específicos para cada bacteria en la cavidad oral.

Estudios tempranos han establecido que el S. salivarius de la saliva vienen de la lengua y no de la placa como se pensaba y que la flora salival no necesariamente refleja la población bacteriana en el diente donde la lesión cariogénica se origina.

Desde entonces ha sido posible obtener considerable información acerca de la localización intraoral de muchos tipos de bacterias acidogénicas y de las uniones de los mecanismos involucrados.

S. salivarius, se ha demostrado que posee una fuerte afinidad por las células epiteliales de la boca, lo cual probablemente se toma en cuenta para su relativa abundancia en los tejidos suaves mejor que en la placa. Esta especie no absorbe una fuerte cantidad de la capa de saliva de la superficie del esmalte.

S. mitis, también muestra una fuerte afinidad por los tejidos suaves de la boca, particularmente el vestíbulo y el aspecto ventral de la lengua.

S. sanguis es sabido que es un habitante mayor de la superficie del diente y muestra una absorción de la capa de saliva del esmalte in vitro e in vivo.

Estudios tempranos demostraron que el estreptococcus mutans fue más rápidamente aislado de la superficie del diente que de otras áreas de la boca tanto en hombres como en animales de experimentación.

Desde entonces ha sido establecido que estas especies muestran poca o ninguna afinidad de adherencia a las células del epitelio oral in vitro. El mantenimiento de la población intra oral de S. mutans en animales y humanos depende de la dieta de sacarosa.

Es bien sabido que la capacidad del S. mutans para convertir sacrosa a polisacáridos dextrana, aparentemente juega una mayor relación en la capacidad que el organismo tiene para establecerse por sí mismo y persistir como una placa insoluble en la superficie del diente.

La importancia de una superficie sólida no brillante para la colonización intraoral de ciertos estreptococos, ha sido demostrada en experimentos con sujetos usando dentaduras totales, y removiendo las dentaduras por dos días, causando esto una reducción en el número de S. mutans en la saliva a un número menor que el detectado en los niveles, lo cual no fue efectivo con el número de S. salivarius.

Esta técnica ha sido usada por Shklair y Mazzarella, para demostrar la importancia de los dientes en el mantenimiento de lactobacilos y levaduras en la boca.

TRANSMISION. ✓

Un paso central a una evaluación de los aspectos inmunológicos de la caries dental, debería ser una determinación de los límites de transmitibilidad de este daño en la raza humana; es importante saber las circunstancias de la infección primaria o inicial así como los cambios infecciosos - subsecuentes, los cuales en particular pueden ser expuesto. Como los tipos humanos de S. mutans no se encuentran diseminados en la naturaleza, es lógico asumir que estas especies son transmitidas dentro de la raza humana, como sea, faltan datos específicos sobre la manera en la cual se logra.

Estudios realizados con animales experimentales, claramente demuestran la transmisión de la flora cariogénica. S. mutans es transmitido rápidamente de los animales infectados a los no infectados en el mismo grado, especialmente cuando son alimentados con una dieta rica en sacarosa.

El organismo se transmite también en familias animales a lo largo de la línea materna.

Esto implica que la madre es el origen de infección más lógico para su hijo. Como sea, debe recordarse cuando se interpreten estos estudios en términos de enfermedades humanas, que en la práctica, el animal experimental joven, usualmente tiene contacto únicamente con su madre; aunque de esta manera el padre y los familiares no pueden ser automáticamente excluidos como origen de infección en la raza humana.

ANIMALES DE LABORATORIO PARA EL ESTUDIO DE LA CARIES.

En el campo de la Microbiología Bucal, los animales de laboratorio se han utilizado para estudiar las enfermedades en esta cavidad, de entre ellas, la caries dental se ha estudiado más intensamente que las demás.

El animal de laboratorio ha resultado útil para determinar el origen microbiano de la caries dental.

Para diferenciar entre un organismo cariogénico y no cariogénico, se utilizan dos métodos. Un método se vale de la rata libre de gérmenes, el otro utiliza el criceto.

Las técnicas gnotobióticas han demostrado que la caries dental no se desarrolla en animales criados libres de gérmenes, aunque la dieta utilizada en los estudios era capaz de producir caries en animales criados convencionalmente.

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 (desalivación, salivariadenectomía ó sialodenectomía), hay un aumento marcado en la susceptibilidad a la caries dental.

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

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 administran por vía general durante el desarrollo del diente.

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, 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.

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 o maduración, se opone al proceso cariogénico de desmineralización, ya que las aplicaciones tópicas de fluoruros aumentan el nivel de mineralización.

Los fluoruros pueden inhibir la caries mediante tres mecanismos: 1) disminuyendo la solubilidad del esmalte; 2) ejerciendo un efecto antienzimático y 3) facilitando la maduración después de la erupción.

Por lo tanto 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.

Se han utilizado los animales para probar agentes anticariogénicos sin fluoruro. Los antibióticos se han utilizado extensamente, los que inhi-- ben principalmente la flora Gram positiva, como la penicilina y la bacitracina, son más eficaces como inhibidores de caries que los antibióticos de - amplio espectro como el cloranfenicol (cloromicetina), estreptomycin, - - clorotetraciclina (aureomicina) y oxitetraciclina (terramicina). Los antibióticos son eficaces para reducir el número de estreptococos y lactobacilos - bucales.

Otro inhibidor de la caries que ha probado ser efectivo en pruebas con animales es el N-lauroil sarcosinato de sodio. Este compuesto posee-

la capacidad 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.

La adición de fosfatos 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 actuar contrarrestando la desmineralización del diente por efecto del ión común y reemplazar el carbonato y citrato con fosfatos en la superficie del esmalte, promoviendo así la formación en el esmalte, de minerales de poca solubilidad en los ácidos.

La rata albina tiene cuatro dientes en cada cuadrante: un incisivo y tres molares. Los incisivos rara vez se ven afectados por caries, ya que se encuentran en erupción constante y poseen una superficie lisa. Los molares tienen fisuras profundas y angostas cubiertas de esmalte que no se extiende por toda la superficie oclusal de la pieza. Los molares de ciertas especies de ratas son susceptibles a la caries dental.

La dentición del criceto es similar a la de la rata ya que también cuenta con un incisivo y tres molares por cuadrante. La forma de los dientes es distinta a la de la rata, pero también son susceptibles a la caries.

También se ha provocado caries experimentalmente en la rata --

del desierto, la algodonera y el mono.

El término gnotobiótico se utiliza para designar a un animal portador de una flora microbiana conocida. Gnotobiótico también puede utilizarse para designar a los animales libres de gérmenes, pero el uso común ha limitado su empleo para aquellos animales portadores de una o más especies conocidas de microorganismos y ninguna desconocida. A los animales nacidos y criados en condiciones normales se les designa convencionales.

Además de la rata libre de gérmenes, el criceto convencional también se ha utilizado para demostrar el papel etiológico del estreptococo en la caries. A los cricetos de poca actividad de caries, se les puede aumentar la misma enjaulándolos con cricetos de actividad de caries elevada. Esto puede demostrarse transfiriendo el criceto albino recién destetado, de poca actividad de caries, a una jaula que aloje a un criceto de marcada actividad y manteniéndolo a base de una dieta con 56% de sacarosa. Un estudio como este demuestra la naturaleza infecciosa y transmisible de la caries dental.

En la figura 1-4 se muestra la estructura anatómica de los molares humano y de rata.

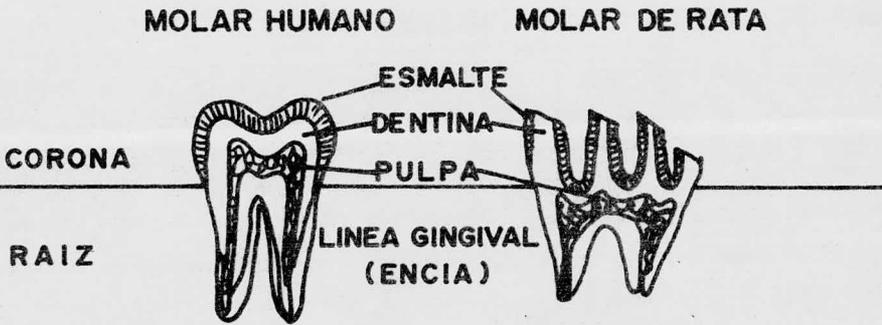


Fig.1 - 4

VII. - PREVENCIÓN Y ERRADICACIÓN DE LA CARIES DENTAL.

A la fecha se han realizado extensas investigaciones en lo referente a la prevención y erradicación de la caries dental, como sabemos, se trata de una entidad multifactorial por lo cual se deberán considerar los siguientes aspectos:

INFLUENCIA DE LA DIETA: Se ha observado que el cambio de dieta puede retardar, disminuir y acaso evitar la aparición del proceso cariioso, la sustitución de los carbohidratos fermentables en la placa bacteriana, por otros no metabolizables, impide la formación de dextranas, así pues, se han lanzado ya al comercio golosinas no cariogénicas, en las cuales la sacarosa a sido sustituida por sucrosa, maltosa, sorbitol, sacarina o ciclamatos. También se han observado que el xilitol tiene un efecto inhibidor de la placa bacteriana, por lo que se le ha incorporado a algunas gomas de mascar. En la tabla I se presenta una lista de los alimentos cariogénicos y de sus posibles sustitutos.

ACTIVIDAD DEL FLUOR: Englander y Keyes demostraron que la aplicación tópica de flúor disminuye la cantidad y tamaño de las lesiones cariosas, así como de las placas cariogénicas.

Existe una gran variedad de fluoruros entre los cuales destacan por sus propiedades los nuevos compuestos orgánicos, en los que se detecta una mayor fijación al esmalte. En cuanto a las formas de aplicar el flúor, la más efectiva es la fluoridación sistemática de las aguas potables, ya

sea a nivel comunal o doméstico, también se le atribuye valor preventivo - al flúor ingerido en té o infusiones, en las cuales J. A. Hargreaves detectó flúor, calculando que de 4 a 7 tazas proporcionan un miligramo diario. Una de las formas más efectivas para la administración de flúor, es la practicada por el Cirujano Dentista, ya que en ella existe un control completo -- del tiempo y condiciones en que se lleva a cabo la interacción flúor-esmalte.

MECANISMOS ESPECIFICOS DE DEFENSA: se ha estudiado la posibilidad de inmunizar al ser humano contra la caries, los estudios lleva-- dos a cabo en simios se basan en la inmunoactivación de las gamma-globulinas presentes en la cavidad oral, contra los constituyentes antigénicos de las bacterias cariogénicas o bien contra sus productos metabólicos. Por el momento se ha logrado obtener una respuesta antígeno-anticuerpo contra la glucosiltransferasa así como una más amplia actividad contra los determinantes antigénicos de la pared celular de S. mutans.

Así mismo, se estudian las posibles vías de administración de dicha vacuna, encontrándose entre los métodos en experimentación los si-- guientes: Inoculación subcutánea

Inoculación submucosa

Inoculación retrógrada de las parótidas.

La respuesta ha sido más significativa cuando la inmunosensibilización se hace por vía submucosa, que cuando se hace por vía subcutánea o por inoculación retrograda de las glándulas salivales.

HIGIENE ORAL: Es definitivamente el más valioso recurso preventivo del cual disponemos, el cepillado, la seda dental, los mondadientes y el water-pick, son elementos que nos proporcionan la remoción de la placa bacteriana, de sus productos metabólicos y la estimulación de las estructuras de soporte con la consecuente queratinización del epitelio gingival que nos ayudan a mantener la salud buco-dental.

T A B L A I

LISTA DE ALIMENTOS CARIOGENICOS Y DE SUS SUSTITUTOS
NO CARIOGENICOS

CARIOGENICOS	NO CARIOGENICOS
Sacarosa (azúcar de mesa)	Sacarina, ciclamatos, otros edulcoran <u>tes</u> .
Caramelos y chocolates	Papas fritas
Gelatinas, mermeladas, frutas secas.	Frutas naturales
Dulces, galletas y pasteles	Palomitas de maíz
Gomas de mascar y chiclosos	Nuevos productos anticariosos
Malteadas y batidos	Leche pura de vaca descremada
Naranjadas sintéticas	Jugos naturales
Refrescos embotellados	Refrescos dietéticos
Pan blanco de caja y pan dulce	Pan integral
Emparedados de cajeta o merm <u>elada</u> .	Emparedados de verduras

VIII. - STREPTOCOCCUS MUTANS.

TAXONOMIA.

Streptococcus mutans tiene una morfología típica de estreptococo, es decir, son microorganismos esféricos, con una disposición característica en forma de cadenas, son Grampositivos, producen lactato casi exclusivamente de la glucosa, y como casi todos los llamados estreptococos viridans no reaccionan con los grupos serológicos de Lancefield, aunque como es usual siempre hay sus excepciones.

Las cepas típicas de Streptococcus mutans fermentan manitol y sorbitol, y producen glucosa de la sacarosa. Estas tres características sirven para distinguir este organismo de cualquier otro estreptococo que se conozca.

Aparte de manitol y sorbitol, S. mutans fermenta lactosa, sacarosa, rafinosa, maltosa, galactosa, fructuosa, melibiosa, trehalosa e inulina.

La mayoría de las cepas no producen amoníaco de la arginina y crecen entre 10 y 44 °C.

Prefieren medios anaerobios o atmósferas enriquecidas con dióxido de carbono. Hay algunas cepas de S. mutans que fermentan rafinosa, algunas de las cuales producen amoníaco de la arginina, y otras reaccionan con el antisuero E de Lancefield.

Pero aún con estas excepciones, las cepas de S. mutans tienen -- una gran homogeneidad fenotípica, y se agrupan muy fuertemente cuando se aplican métodos numéricos de taxonomía.

Estos organismos pueden ser diferenciados muy fácilmente de -- otros estreptococos orales. S. Sanguis muy a menudo encontrado, fer--menta manitol o sorbitol y produce amoníaco de la arginina. Streptococcus mitis no produce amoníaco a la arginina, no fermenta el manitol ni el -- sorbitol.

Streptococcus salivarius tampoco ^{NO} fermenta manitol o sorbitol y puede distinguirse por su producción de leván de la sacarosa. Algunos -- otros estreptococos que comparten características con S. mutans, pue--den también diferenciarse fácilmente. No deben confundirse cepas productoras de amoníaco de la arginina, por ejemplo: S. faecalis que crece a 10°C y a un pH de 9 y tiene un antígeno D-específico. Streptococcus bovis no fer--menta típicamente manitol y nunca sorbitol, éste agrieta el medio de cul--tivo, lo que no hace S. mutans. El grupo E puede ser separado de S. ube--ris y S. infrequens por otros datos, producción de glucán y en el caso de S. uberis, la hidrólisis de hipurato. Streptococcus infrequens falla en el -- intento de fermentar inulina y rafinosa.

Bratthal demostró cinco grupos serológicos, a, b, c, d, y Lance--field E. Grupo c y Lancefield E dan reacción cruzada. El DNA de -- S. mutans tiene entre 36 y 46 % de guanina y citocina, y la reasociación -- experimental de DNA-DNA ha mostrado la existencia de cuatro grupos --

distintos, todos éstos tienen una correlación perfecta con los grupos serológicos de Bratthall.

Se han encontrado diferencias enzimáticas, bioquímicas, ultraestructurales y de pared celular, también estas correlacionan con los grupos genéticos y antigénicos.

Streptococcus mutans se divide en cuatro subespecies las cuales son: S. mutans subespecie mutans, S. mutans subespecie rattus, S. mutans subespecie cricetus y S. mutans subespecie SL. todas estas subespecies tienen características perfectamente diferenciadas, de tal manera que no pueden confundirse entre sí, más adelante se mencionarán algunas de las características de estas subespecies.

La clasificación de Bratthall incluye cinco serotipos (a-e) se basa en un experimento de difusión en gel usando un extracto de antígenos extraídos con ácido caliente y sobre inmunofluorescencia. Los primeros cuatro tipos se procesaron con antígenos específicos para S. mutans, mientras que los del tipo e reaccionaron con el grupo E de Lancefield.

En estudios recientes Perch, Kjems y Ravn sugirieron adicionar serotipos, el f y g pero omitieron el tipo SL-I de la clasificación.

El antígeno g es similar al antígeno del tipo d y al antígeno del tipo a.

El tipo f se caracteriza por la ausencia del antígeno de los ti-

pos a, d y g, pero presenta un antígeno específico.

DIFERENCIAS GENÉTICAS Y BIOQUÍMICAS ENTRE LOS DISTINTOS SEROTIPOS.

La adición de las características bioquímicas y de cultivo a los serotipos, pueden ser una ayuda para la identificación de las variantes de S. mutans.

De acuerdo con la diferenciación bioquímica establecida por Coykendall's, el serotipo a se identificó por su falta de crecimiento en un medio aerobio, el serotipo b por su capacidad para producir amoníaco. La característica principal del serotipo c fue una lenta glicolisis de la fructosa y del tipo d fue que no pudo fermentar la rafinosa.

Otro método de diferenciación por técnicas bioquímicas ha sido usado por Shklair y Keene. La identificación se basó en la fermentación de manitol con o sin bacitracina, de sorbitol, de rafinosa y de su capacidad de producir amoníaco a partir de arginina.

Los análisis cualitativos del carbohidrato de la pared celular, -- también pueden ser una ayuda en la diferenciación entre los distintos serotipos. Hardie y Bowden encontraron tres grupos de patrones de paredes celulares. En la tabla II se exponen los resultados.

En un estudio sobre la composición de la pared celular de los estreptococos cariogénicos, se encontró que los carbohidratos constituyen el 15% de la misma, mientras que en ciertas cepas de Streptococcus mutans de cariogenicidad desconocida, sólo hay 3% de carbohidratos en la -

pared celular.

Se encontró que la relación de ramnosa-n-acetilglucosamina que existe en la pared celular no ayuda a distinguir entre estreptococos cariogénicos y no cariogénicos.

Emilson y Bratthall han usado medios selectivos para la diferenciación de los serotipos de S. mutans. El crecimiento del tipo a ha sido inhibido en el medio MSB-agar y también el tipo d y g en el medio MC-agar.

En el hombre, la placa dental de personas que padecen caries contiene una proporción mayor de microorganismos capaces de producir polisacáridos yodofílicos 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 períodos de vigilia, los estreptococos son capaces de metabolizarlo formando ácido láctico.

Los estreptococos que son cariogénicos producen mayor cantidad de polisacáridos extracelulares a partir de sacarosa, no así aquellos que no han demostrado ser cariogénicos. Este polisacárido se produce de sacarosa pero no de glucosa, maltosa, lactosa o fructuosa.

Los microorganismos que producen polisacáridos extracelulares de sacarosa, también producen polisacáridos intracelulares a base de glu-

cosa. Este polisacárido extracelular se adhiere a las paredes y al fondo de los recipientes utilizados para el cultivo, formando una masa gelatinosa.

Un polisacárido extracelular producido por bacterias cariogénicas se llama dextrán, un polímero de la glucosa. El dextrán es capaz de formar un complejo insoluble con la saliva que se adhiere a la superficie de los dientes, 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% del peso seco total de la placa.

Streptococcus mutans produce una enzima extracelular, la dextranosacarosa o glucosiltransferasa que es capaz de hidrolizar la sacarosa y sintetizar el polímero dextrán de la glucosa.

Estas dextranas están constituidas por un esqueleto principal con enlaces α I-6 de las moléculas de glucosa con una proporción variable de ramificaciones α I-3.

Se han estudiado dextranosacarosas extracelulares e intracelular y hasta ahora no se ha descrito el mecanismo exacto para la síntesis de estas moléculas heterogéneas de dextrán.

La mayoría de las propiedades de estas enzimas son similares, si bien se observan algunas discrepancias en el peso molecular y en la multiplicación de estas enzimas.

Contrario al dextrán se ha aislado el leván, un polímero de la --

fructuosa, a partir del Streptococcus salivarius, que sí es hidrolizado por las poblaciones bacterianas mixtas.

Se conocen 48 cepas distintas de Streptococcus mutans en las cuales es posible aislar uno de dos antígenos específicos H_1 y H_2 entre los cuales predominan el H_1 en la raza humana, en una proporción del 93.9 %.

DISTRIBUCION DE LOS SEROTIPOS DE S. MUTANS.

Bratthall, usando anticuerpos fluorescentes, investigó 275 placas dentales que le fueron enviadas por investigadores de 14 áreas alrededor del mundo. Estos estudios mostraron diferencias geográficas definidas en la distribución de los distintos serotipos de S. mutans. En Europa, los serotipos c, d y e se encontraron en 14 regiones diferentes del mundo, -- los serotipos a y b solo se encontraron en 6 y 9 lugares respectivamente, los tipos f y g no fueron estudiados específicamente. En cambio, -- predominaron los serotipos a y b en las muestras de placas obtenidas en El Cairo, Egipto y solamente se encontraron un número limitado de cepas del grupo c.

La mayoría de los individuos dan albergue a más de un serotipo y los más frecuentemente encontrados son los serotipos c, d y e.

En la Tabla III se exponen los resultados.

CARIOGENICIDAD DE LOS SEROTIPOS DE S. MUTANS.

El número de las superficies del diente infectado, están en relación con la actividad de la caries, este tipo local de infección también lo --

encontraron Ikeda, Sandham y Bradley, observando una proporción más elevada de S. mutans en fosetas y fisuras, que en las superficies proximales. La iniciación de caries tiende a estar precedida por incremento en el número de S. mutans y de lactobacilos.

Shlair, Keene y Simonson encontraron que S. mutans forma el 30% del número total de estreptococos sobre la lesión cariosa, 20% cerca y el 11% distante de la lesión.

En un estudio piloto, Kohler, Petterson y Bratthall usando la técnica de inmunofluorescencia cuantitativa, demostraron que los serotipos c y d se encontraron sobre la superficie de los dientes en un 25% de los niños entre 13 - 16 años de edad y en todas las superficies, el 36% fue del tipo c, y el 54% del tipo d.

TABLA II

SUMARIO DE ALGUNAS DIFERENCIAS BASICAS DE ESTREPTOCOCOS MUTANS

Serotipos	I* mutans			II* rattus	III* sobrinus			IV* cricetos
	c	e	f	serotipo + b	d	serotipo + g	-	serotipo + a
Ejemplo de	NCTC 10449	LM7	OMZ 175	Fa - 1	B13	OMZ 65	SL - 1	AHT
Cepas	JC2	B2		BHT	OMZ 176	K1R		E49
Guanina +	37.1 - 37.9	ND	ND	42.2-43.4	ND	45.2	45.1	92.7-43.7
Citosina	36.9 - 37.5	36.6-36.9	ND	40.8-41.8	44.7	45.2	44.9	41.3-41.8
(mol %)								
de Tm ⁺ 4								
de CsCl ₂ ¹⁰								
Pared celular		Glucosa		Galactosa		Glucosa		Glucosa
Contenido en		Ramnosa		Ramnosa		Galactosa		Galactosa
carbohidratos						Ramnosa		Ramnosa
Biotipos	1.	1.	1.	2.	3.	3.	3.	1.
Agrupación de								
acuerdo a la lec								
troforesis.								
Movilidad del manitol-1-	1.	N.D.	ND	2.	4.	4.	4.	3.
Desidrogenasa-fosfato								

NOTA: ND. No hay datos.

* S. Mutans sub-especies.

+ Serotipo.

† De desnaturalización termal.

§ De densidad CsCL.

T A B L A III
FRECUENCIA DE ESTREPTOCOCOS MUTANS

AREA	EDAD DE LOS SUJETOS	No. DE LAS PERSONAS	FRECUENCIA (%)							M E T O D O S
			a.	b.	c.	d.	e.	f.	g.	
Florida 1970	13-18	27.	7	100	89	-	-	-	-	Inmunofluorescencia. - Posible reacción inespecífica del anti-b con <u>S. Sanguis</u> .
Florida 1972	12-14	86	13	100	47	-	-	-	-	Inmunofluorescencia. - Posible reacción inespecífica del el suero anti-b con <u>S. Sanguis</u> .
Nueva Guinea 1972	. . .	142	4*	22	25	14	-	-	-	Inmunofluorescencia. - (bratthall datos no publicados) suero anti-c. reaccionó también con tipo "c" y "f". también anti-d con tipo "g".
Michigan 1973	14-16	24-51	0	74	8	100	0	-	-	Inmunofluorescencia. - Posible reacción inespecífica con suero anti-b, con <u>S. Sanguis</u> . Suero anti-d, probablemente reaccione también con tipo "g".
Dinamarca 1974	. . .	126 tipos de 114 individuos	0	0	73.	1.	7.	6.	6.	Inmunofluorescencia y prueba bioquímica. El estudio fue seguido de tipos aislados. Probablemente no hay reacción cruzada.
Massachusetts 1974	Madres Niños	9. 9.	0. 0.	11. 11.	100. 100.	22. 0.	11. 0.	-	-	Difusión de gel en tipos aislados. Identificación del tipo-b confirmada con inmunoelectroforesis.
Illinois 1974	17-22	194.	2.	0.	97.	8.	5.	-	-	Identificación bioquímica de cepas aisladas.
Suecia 1974	8.	43.	-	-	65+	93.	-	-	-	Inmunofluorescencia. (bratthall. datos no publicados).

NOTA: Las figuras muestran que x 100 de la población fue infectada con varios serotipos.

- Indica serotipos que no fueron específicamente buscados.
- . Figuras calculadas sobre 142 individuos; 72 de estos estaban libres de cualquier tipo de S. Mutans.
- + Figuras calculadas sobre 43 individuos, un niño estaba libre de cualquier tipo de S. Mutans.

IX. - MATERIAL, REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO.

Incubadora.

Incubadora para anaerobiosis.

Autoclave.

Horno para esterilización

Potenciómetro o papel indicador de pH.

Balanzas granatarias precisas.

Unidades de filtración.

Matraces Pyrex para la preparación de medios de cultivo y reactivos.
reactivos.

Pipetas graduadas de diferentes capacidades (10, 5, 1 y 0.5 ml)

Cajas de Petri, de diferentes diámetros, de cristal Pyrex o de plástico desechable.

Tubos de ensayo de tapón de rosca de 18 x 125 mm.

Tubos de ensayo de 22 x 175, 16 x 150 y 13 x 100 mm.

Microscopio.

Mecheros, tripiés, telas de alambre con asbesto, asa bacteriológica, gradillas para 40 tubos, algodón y gasa, lápiz graso.

Colorantes para la tinción de Gram.

Solución de telurito al 1%.

Solución de bacitracina conteniendo 200 unidades de bacitracina

Solución de cloruro de 2, 3, 5, trifenil tetrazolio al 4%.

Solución buffer 0.067 M de fosfato, de K

Reactivo de Nessler.

Soluciones de manitol, sorbitol, rafinosa, melibiosa y glucosa.

Medios de cultivo

Mitis Salivarius Agar	Tioglicolato sin carbohidrato ni indicador.
Púrpura caldo base	L-arginina
Caldo - cerebro - corazón	Triptona
Extracto de levadura	

Procedimiento para la inoculación de placa dental humana en medio de Mitis-Salivarius-Agar.

Las placas son tomadas de niños de 12-14 años con caries de las superficies bucal y bucoproximal de los maxilares de los primeros y segundos molares y se pasan a un medio de transporte. Las diluciones se siembran en placas de Mitis-Salivarius-Agar, se incuban a 37°C en una atmósfera con 95% de nitrógeno y 5% de dióxido de carbono, durante 2 ó 3 días obteniéndose una gran cantidad de colonias. Posteriormente se procede a efectuarse las respectivas bioquímicas de cada una de las colonias para su identificación.

Una usada de las colonias de S. mutans se colocan en un tubo que contenga 30 ml de Infusión-cerebro-corazón más 0.1% de agar, incubar aerobícamente por 18 horas a 37°C. Este medio sirve para la conservación de las cepas de los diferentes S. mutans.

FORMULA DE MSB PARA EL CULTIVO SELECTIVO DE STREPTOCOCCUS MUTANS DE LA PLACA DENTAL HUMANA.

A 1000 ml del reconstituido comercial Mitis Salivarius Agar, agregar 150 g. de sacarosa, calentar a ebullición hasta que se disuelva la sacarosa. Esterilizar en autoclave a 121°C y 15 lbs de presión por 15 minutos. Enfriar a 45°C, y agregar 1 ml de solución de telurito al 1% y 1 ml de solución estéril de bacitracina conteniendo 200 unidades de bacitracina por ml. Agitar el matraz lenta y perfectamente para mezclar el contenido sin que se forme espuma.

Verter 15 - 20 ml en cajas petri esterilizadas y dejar solidificar a la temperatura ambiente. Guardar las placas en refrigerador hasta su uso ya que la bacitracina es un antibiótico con estabilidad limitada.

La solución de bacitracina se prepara en agua destilada estéril y con un mínimo de agitación para prevenir la formación de espuma. La solución stock es estable por una semana en el refrigerador.

PROCEDIMIENTO PARA LA TINCION DE COLONIAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS DESARROLLADAS EN MITIS SALIVARIUS AGAR.

Inocular diluciones apropiadas de las muestras en placas de Mitis Salivarius Agar para obtener colonias bien aisladas. Las placas se incuban durante 24 horas a 37°C en una atmósfera con 95% de nitrógeno y 5% de dióxido de carbono, se mantienen las placas durante una noche en aero

biosis a la temperatura ambiente, posteriormente se rocían las placas con manitol al 10% y se incuban a 37°C durante 3 horas, posteriormente se rocían las colonias con una solución al 4% de cloruro de 2, 3, 5, trifeníl tetrazolio y se incuban durante una hora más. Las soluciones de manitol y cloruro de trifeníl tetrazolium deben realizarse en una solución buffer 0.067 M. de fosfato a un pH de 7.2 para asegurar el desarrollo de color.

Las colonias de S. mutans toman un color rosa, siendo las colonias elevadas y ásperas. Otros estreptococos permanecen de color azul; -- las colonias de enterococos, si es que son aisladas, aparecen planas, lisas y de color rojo brillante.

La noche de incubación aerobia, siguiente a la primera incubación anaerobia es esencial para el éxito de la técnica, de otra manera y sobre todo por el bajo Eh del medio, se provocaría que las colonias permanecieran de color rojo.

ESQUEMA BIOQUIMICO PARA LA SEPARACION DE CINCO VARIETADES DE STREPTOCOCCUS MUTANS.

Fue desarrollado un esquema bioquímico para la separación de -- Streptococcus mutans dentro de cinco biotipos, a, b, c, d, e, los cuales se relacionaron con los serotipos a-e.

La identificación de los biotipos y serotipos de S. mutans, se basó en la fermentación del manitol con o sin bacitracina, sorbitol, rafinosa, melibiosa y la capacidad del microorganismo para producir amoníaco a - -

partir de la arginina. El medio base para la fermentación de los carbohidratos fue el tioglicolato (sin carbohidrato ni indicador: Difco 24 g/l, y púrpura caldo base (Difco), 16 g/l). Los carbohidratos manitol, sorbitol, rafinosa y melibiosa, se esterilizaron por membrana millipore y se agregaron asépticamente al medio base, la concentración final de los carbohidratos fue de 0.5%. Se prepararon tubos adicionales de manitol, como se dijo, con la adición de 2 unidades/mililitro de bacitracina que tiene como objeto inhibir la producción de ácido para algunos serotipos pero no para otros. Los medios mencionados se distribuyeron en tubos estériles con tapón de rosca, inoculados con las series de prueba y realizada la lectura a las 48 horas de incubación en anaerobiosis.

El medio de Niven, Smiley y Sherman (1942), se usó para la determinación de la producción de amoníaco a partir de la L-arginina. Después de 48 horas de incubación en anaerobiosis, se agregó directamente al medio, 0.1 ml de reactivo de Nessler, el desarrollo de un color naranja-amarillo, indicó la producción de amoníaco en el cultivo.

Todas las reacciones anteriores fueron discernibles dentro de las 48 horas posteriores a la incubación.

El esquema bioquímico que divide a S. mutans en cinco biotipos, a, b, c, d, e correspondió en todos los casos con los serotipos de Brathall.

La tabla IIV, muestra el esquema bioquímico para la separación-

de los serotipos de Streptococcus mutans.

El esquema bioquímico se aplicó a 194 hombres jóvenes entre 17 y 22 años de edad de la Escuela de Reclutas Navales de Great Lakes, Illinois, todos los jóvenes eran portadores de S. mutans y todos tenían una evidencia clínica o radiográfica de pasadas experiencias de caries. Se obtuvieron muestras de placas de tres sitios diferentes, clínicamente sanos; oclusal, proximal y bucolingual de molares derechos e izquierdos, de maxilar y mandíbula. Las muestras de placas se sembraron sobre Mitis-Salivarius Agar (MS; Difco), con y sin 0.05% de sulfisomidina. Las placas se incubaron a 37°C, por 24 horas en una atmósfera con 95% de N₂ y 5% de CO₂ y se dejaron a temperatura ambiente durante 24 horas adicionales, examinándose posteriormente. Las placas examinadas y tanto las colonias representativas como las sospechosas de ser S. mutans, se transfirieron a tubos con Tioglicolato enriquecidos con manitol (sin glucosa o indicador), caldo base púrpura y 0.5% de manitol. Este caldo sirvió como base para un procedimiento adicional para la selección de S. mutans. Los tubos de enriquecimiento con manitol se incubaron por un mínimo de 72 horas y aquellos que produjeron una reacción ácida se resembraron en MS agar. El crecimiento en la mayoría de los casos produjo un cultivo puro. Las colonias típicas se transfirieron a caldo Todd-Hewitt (Difco), suplementado con 0.5% de dextrosa e incubaron a 37°C durante la noche en una atmósfera de 95% de N₂ y 5% de CO₂. El ensayo de azúcares y caldo Niven fueron inoculados con 0.1 ml de estos cultivos.

De los cinco biotipos de S. mutans en el grupo de los 194 reclutas, sólo se observó un biotipo por individuo en la mayoría de los casos (89.2%), pero en algunos casos se identificaron dos o tres biotipos diferentes.

Contando el aislamiento único y múltiple, el tipo que más prevaleció fue el biotipo c, aislado en 189 hombres (97.4%).

El grupo d, se aisló de 15 hombres (tres únicos y 12 múltiples) y el grupo e, se aisló nueve veces (uno único y ocho múltiples). El grupo a, se aisló sólo en tres hombres simultáneamente con el grupo c y el grupo b, en ningún momento se encontró ni solo ni en combinación con otros biotipos.

Con el creciente interés en S. mutans desde los puntos de vista taxonómico y epidemiológico, este trabajo ofrece un método fácil, simple y realizable para la diferenciación bioquímica de S. mutans. De hecho este método es el que se utiliza en la actualidad para la diferenciación de los diversos tipos de S. mutans.

Más adelante se describe la forma de preparar los diferentes medios de cultivo que se utilizan para la diferenciación bioquímica de Streptococcus mutans.

T A B L A IV

ESQUEMA BIOQUIMICO PARA LA SEPARACION DE SEROTIPOS DE S. MUTANS

Ensayo Bioquímico	Serotipos				
	a	b	c	d	e
Manitol	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+*	+
Rafinosa	+	+	+	-	+
Melibiosa	+	+	+	-	-
NH ₃ de L-arginina	-	+	-	-	-
Manitol-2 units/ml de bacitracina	-	+	+	+	+

* Cepa B-13 no fermenta el sorbitol.

LOS MEDIOS PARA LA DIFERENCIACION METABOLICA DE S. MUTANS SON PREPARADOS COMO SIGUE:

A 400 ml de agua, adicionar 8 g. de caldo púrpura base (0227-01 Difco), 12 g de Bacto-tioglicolato sin glucosa ni indicador (0432-01 Difco) y 2.0 g. de agar. A 100 ml de agua adicionar 5 g de manitol, sorbitol, rafinosa o melibiosa. Filtrar a través de un filtro de 0.20 micras, adicionar la solución estéril de azúcar a los 400 ml de medio stock a 50°C. Con una pipeta estéril, distribuir asépticamente 0.4 ml de la solución en micropla-

cas de 6 mm de diámetro, repetir este procedimiento para los otros azúcares.

El agar manitol inclinado se prepara:

A 300 ml de agua adicionar 6.4 g. de caldo púrpura base y 6.0 g de agar. Hervir para disolver y llevar al autoclave, enfriar a 50°C. A 100 ml de agua agregar 4 g de manitol y filtrar para esterilizar. Mezclar la solución estéril de manitol con la base purpura agar y con una pipeta estéril distribuir 0.4 ml dentro de microplacas estériles.

Para probar la producción de amoníaco del medio de Nivens arginina se usa el siguiente medio.

- 0.5 % triptona
- 0.5 % glucosa
- 0.3 % extracto de levadura
- 0.3 % L-arginina
- 0.3 % $K_2 H P O_4$
- 0.5 % agar

Meter al autoclave esterilizar y una vez estéril, con una pipeta estéril, distribuir 0.4 ml dentro de microplacas estériles.

PROCEDIMIENTO PARA LA INOCULACION

Tomar una colonia aislada de S. mutans y sembrarla en un tubo que contenga 3.0 ml de medio de cultivo con azúcar (Bacto-Beef-Heart infusión) más 0.1 % de agar. Incubar en aerobiosis durante 18 horas a 37°C.

Poner una gota del mismo inóculo en cada pozo de identificación -- dentro de la microplaca.

Picar el medio de agar con manitol al 1% con una asa estéril des--pués de haberlo inoculado, incubar las microplacas a 37°C durante 48 horas.

Un cambio de color de púrpura a amarillo es una prueba positiva-- para el agar manitol y otros azúcares de prueba. Agregar una gota del - - reactivo de Nessler en cada pocillo que contenga el medio de arginina, un-- color naranja indica una reacción positiva.

Los tubos de medio se pueden preparar en la misma forma en que se prepara el medio para las microplacas, solo omitiendo el 0.5% de agar-- en el caldo purpura base y tioglicolato y en el medio de Nivens, distribuir - 10 ml en cada tubo. El agar manitol al 1 % se prepara como se mencionó an--teriormente y se distribuyen 8 ml por tubo, los tubos se inclinan para que solidifiquen así.

Cuando se utilizan los medios en tubo, incubar el agar de manitol slant/butt en forma aerobia por 48 horas, la reacción ácida en la parte in--clinada o en el fondo es una prueba positiva. Incubar los tubos de arginina inoculados y el caldo de tioglicolato purpura azucarado en forma anaerobia (59 % N₂ y 5 % CO₂) durante 48 horas. Después de la incubación agregar - 0.3 ml del reactivo de Nessler en el medio de arginina en tubos. Un preci--pitado naranja es una prueba positiva.

El caldo Todd-Hewitt puede ser utilizado para la preparación de -

inóculos cuando las pruebas metabólicas se realiza en medios en tubos.

X. - RESULTADOS.

En el presente estudio además de comprobar y de ver los problemas que presentan las diferentes técnicas para el aislamiento, identificación y clasificación del S. mutans, se estudiaron algunas de las características de los estreptococos sanguis y salivarius que se encuentran presentes en grandes cantidades en la cavidad oral.

Estos resultados nos indican que S. mutans, S. sanguis y S. salivarius tienen características diferentes.

Cuadro 1 Características del desarrollo de las colonias de los diferentes estreptococos en medio de Mitis-Salivarius-Agar.

<u>CARACTERISTICAS.</u>	<u>S. mutans</u>	<u>S. sanguis</u>	<u>S. salivarius</u>
Crecimiento	rápido	rápido	rápido
Forma	puntiforme	irregular	circular
Superficie	lisa y brillante.	opaca	opaca
Elevación	elevada	elevada	elevada
Color	azul oscuro	-	-

En lo que respecta a la técnica para la tinción de colonias de S. mutans desarrolladas en Mitis-Salivarius-Agar la prueba resultó positiva es decir las colonias de S. mutans tomaron un color rosa, mientras

que las colonias de S. sanguis y S. salivarius tomaron un color azul.

Características del desarrollo de las colonias de los diferentes estreptococos en medio de Infusión-cerebro-corazón.

CARACTERISTICAS	<u>S. mutans</u>	<u>S. sanguis</u>	<u>S. salivarius</u>
<u>En medio líquido</u>			
Crecimiento superficial	Nada	Nada	Nada
Enturbiamiento	abundante	ligero	ligero
Sedimento	granular	granular	granular
* Otro	desarrollo en las paredes del tubo.	desarrollo en las paredes del tubo.	-

* Además de las características antes mencionadas en el caso de S. mutans y de S. sanguis se observa un desarrollo en las paredes del tubo tomando una apariencia de telaraña siendo más predominante esta estructura en el caso del S. mutans.

<u>En medio sólido (placas).</u>			
Crecimiento	rápido	lento	rápido
Forma	circular	circular	circular
Superficie	húmeda	húmeda	húmeda
Elevación	elevada	elevada	elevada
Color	blancas	blancas	blancas
Tamaño de las colonias.	pequeñas	muy pequeñas	medianas

Resultados de las bioquímicas realizadas con los diferentes estreptococos bucales.

<u>Ensayo bioquímico</u>	<u>S. mutans</u>	<u>S. sanguis</u>	<u>S. salivarius</u>
Manitol	+	-	-
Sorbitol	+	-	-
Rafinosa	-	-	-
NH ₃ de-L-arginina.	-	+	-
Manitol slant/butt. (inclinado/fondo)	+	V	-

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

- La caries es una desintegración de los dientes que comienza en la superficie y progresa hacia el interior. Primero se desmineraliza el esmalte superficial, el cual es completamente acelular. Esto ha sido atribuido al efecto de los productos ácidos de la fermentación bacteriana, en tanto que en la descomposición de la dentina y el cemento interviene la digestión bacteriana de la matriz proteica.

- Un primer paso esencial en la producción de la caries es la formación de una placa sobre la dura superficie lisa del esmalte. La placa -- consiste principalmente de depósitos gelatinosos de dextrana de elevado peso molecular y de levanas en las cuales las bacterias productoras de ácido se adhieren al esmalte. Los polímeros dextrana y levanas son producidos - por el Streptococcus mutans a partir de la sacarosa.

- La segunda etapa esencial en la producción de caries es la formación de grandes cantidades de ácido a partir de los carbohidratos por - los estreptococos y lactobacilos en la placa.

- Hay una fuerte correlación entre la presencia de S. mutans y las caries sobre zonas específicas del diente, tanto en animales de experimentación y en el hombre.

- El Streptococcus mutans se encuentra dentro del grupo de los - estreptococos alfa-hemolíticos (estreptococos viridans) del cual se cono-

cen 48 cepas distintas, en la raza humana, se encuentra en una proporción del 93%. Otros estreptococos que se encuentran normalmente en la cavidad oral son S. sanguis, S. mitis y S. salivarius.

- S. mutans puede ser separado en por lo menos 7 serotipos, 5 de los aerotipos se basan en antígenos que son específicos para S. mutans. Un tipo el, e, se relaciona con el grupo E del tipo Lancefield y el otro tipo f, puede pertenecer al antígeno que presenta especificidad serológica.

- En los análisis de las placas de individuos con alta actividad cariiosa la mayoría de los casos tienen la presencia de los serotipos c, d y posiblemente del tipo g esto no significa que estos serotipos el c, d y g son más cariogénicos que los demás.

- La caries puede ser transmitida mediante la inoculación de S. mutans de un órgano dentario a otro mediante el instrumento empleado en la exploración bucal.

- Los medios de cultivo utilizados para el aislamiento de S. mutans cada día están sufriendo una serie de modificaciones con el objeto de hacerlos más específicos para S. mutans o bien las colonias tomen diferentes coloraciones de tal manera que nos permitan diferenciar S. mutans de los otros estreptococos que se encuentran en la cavidad oral.

- Los estudios de tipo inmunológico están ocupando un lugar de gran importancia en el estudio de la caries y en especial en las características inmunológicas de S. mutans.

BIBLIOGRAFIA

- Alan L. Coykendall. Taxonomy of Streptococcus Mutans. Dhew Pub. No. - (NIH) 74-286 May 10, 1973.
- Andrew M. Chludzinski, Greg. R. Germaine, and Charles F. Scahchtele -- Streptococcus mutans Dextranase: Purification, Properties, and Requirement for Primer Dextran. J. Dent Res Special Issue C. Vol. 55. 1976.
- Balint Orban. Histología y Embriología Bucodental, Tercera edición, Editorial Labor, S. A. Argentina 1964.
- J. Carlsson. A Medium for Isolation of Streptococcus mutans. Archs oral -- Biol Vol. 12 pp. 1657-1658, 1967.
- Douglas Bratthall and Birgitta Kohler. Streptococcus mutans Serotypes: Some Aspect of Their Identification, Distribution, Antigenic Shifts, and Relationship to Caries, J. Dent Res Special Issue C. Vol. 55. 1976.
- Douglas Bratthall. Demonstration of Five Serological Groups of Streptococcal Strains Resembling Streptococcus mutans, Arch oral Biol. Vol. 2 pp. 143-142, 1970.
- Eugene P. Lazzari. Bioquímica Dental. Primera edición, Editorial Interamericana, S. A. México 1970.
- Guen Marshall. A Rapid Micromethod for Metabolic Differentiation of Streptococcus Mutans. Dhew Pub. No. (NIH) 74-286 May 10, 1973.
- Harold V. Jordan. Other Organisms and Other Types of Caries Dhew Pub. No. (NIH) 74-286 May 10, 1973.
- Harold V. Jordan. Cariogenic Flora: Establishment, Localization, and Transmission. J. Dent Res Special Issue C. Vol. 55. 1976.

T. Ikeda and H. J. Sandham. A High-Sucrose Medium for the Identification - of Streptococcus mutans. Archs oral Biol. Vol. 17, pp. 781-783. 1972.

Irving L. Shklair. Streptococcus mutans and The Epidimiology of Dental Caries, Dhew Pub. No. (NIH) 74-286 May 10, 1973.

Nolte W.A. Oral Microbiology with Basic Microbiology and Immunology, - - Third edition, C. V. Mosby Company, Saint Louis 1977.

Olga G. Gold, H. V. Jordan and J. Van Houte. A Selective Medium for Streptococcus mutans. Archs oral Biol. Vol. 18, pp. 1357-1364, 1973.

Richard A. Cowman. Anino Acid Requirements of Streptococcus mutans. -- Dhew Pub. No. (NIH) 74-286 May 10, 1973.

Roberth J. Berkowitz, D. D. S. Streptococcus mutans - Establishment and - - Transmission in Infants. Journal of Dentistry for children. Muy-June, 1976.

Roberth J. Fitzgerald. Brief History of Streptococcus mutans. Dhew Pub. - No. (NIH) 74-286 May 10, 1973.

Ronald J. Gibbons. Ecology of Streptococcus mutans. Dhew Pub. No. (NIH) - 74-289 May 10, 1973.

I. L. Shklair and H. J. Keene. A Biochemical Scheme for the Separation of - the Five varieties of Streptococcus mutans. Archs oral Biol. Vol. 19, pp. - 1079 to 1081. 1974.

JOURNAL OF THE INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR
DENTAL RESEARCH, ABSTRACTS OF PAPERS

I. - February 1975 Volume 54 Special Issue A

a) 53-th GENERAL SESSION APRIL 5-8 1975.

New York N. Y. U. S. A.

ABSTRACTS:

- 161 Aunique Approach to preventing caries in School children.
- 292 Effects of fluoride whit sucrose in human experimental caries.
- 293 Fluoride deposition in human enamel invivo from professionally applied fluoride prophylaxis paste.
- 294 Protection against rat caries by fluoride in water vs. diet.
- 525 Immunization of monkeys with glucosyltransferasa, fructosyl transferrasa.

b) GENERAL SESSION APRIL 10-12 1975

Imperial College of Science and Technology
London, England.

- L- 69 Structure and properties of extracellular polysaccharides produced by differents strains of S. mutans.
- L- 72 Oligosaccharides produced by glucosyltransferasa activity on sucrosa, maltosa mixtures.
- L- 104 Improvement of the capacity of sodium monofluorophosphate to form fluoridated hydroxiapatite.
- L- 393 Binding of IgA to S. mutans.
- L- 396 Parotid IgA secretion related to dental caries experience.
- L- 397 Immuneresponses in prevention of caries in Rhesus monkeys.

JOURNAL OF THE INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR
DENTAL RESEARCH

Vol. 56 Special Issue B

55 th. Annual General Session June 23-26 1977

Las vegas, Nevada.

ABSTRACTS:

- 13 Studies of the influence of saliva on the initial attachment of S. mutans to hidroxyapatite sufaces.
- 16 Inhibition of virulence factors of S. mutans by coupling suggars.
- 17 Reduction of S. mutans adhesion with maltosa, lactosa, sucrosa.
- 19 Intraoral spread of S. mutans by means of dental explorer.
- 140 An improved selective medium for the isolation of S. mutans.
- 141 Comparison of micromethod systems with the conventional media for - identification of oral streptococci.
- 143 Typing of S. mutans in a clinical surbery: Biochemical typing confirmed by DNA analysis.
- 147 Effect of sodium fluoride on the extracellurar glucan production of S. mutans.
- 199 The epidemiology of S. mutans and lactobacillus in human dental plaque.
- 201 Xylitol-sweetened chewing gum, changes in the colonization of plaque by S. mutans.
- 206 Effet of chewable fluoride tablets on dental caries in school children.
- 209 The additive anticariogenic effect of an Sn F. Ca P O dentrific and - an APF topical application.
- 404 Effect of oral immunization on dental plaque and caries.
- 405 Intubation of rats with S. mutans induces a secretory immune response.

- 632 Effect of milk and fluoridated milk on bacterial enamel demineralization.

JOURNAL OF THE INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR
DENTAL RESEARCH

Vol. 57 Especial Issue A

56 th. GENERAL SESSION MARCH 16-19 1978

Washington D. C. U. S. A.

ABSTRACTS:

- 3 Serological properties of S. mutans from humans and some animals.
- 115 Experimental immunization with glucosyltransferasa.
- 145 Anticaries and antiplaque activities of a new organic fluoride compound.
- 147 Topical application of xylitol and other sucrose substitutes after restricted cariogenic meals.
- 270 Acidogenic organisms in caries active plaques.
- 276 Effects of fluoride on S. mutans viability
- 297 Selectivity of test medium for S. mutans
- 418 Agregation and adherence of S. mutans role of IgA.