

105



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE
Lactobacillus EN LA PLACA
DENTOBACTERIANA DE NIÑOS CON Y SIN
APLICACIONES TÓPICAS DE FLÚOR.**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA
PRESENTA:**

FILIBERTO HERNÁNDEZ SÁNCHEZ.

DIRECTOR:
DRA. GLORIA GUTIÉRREZ VENEGAS



FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA

MÉXICO, D.F.

ENERO, 2000

1011101
277442



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

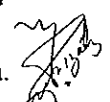
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

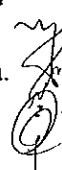
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

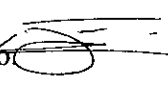
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

JURADO ASIGNADO.

PRESIDENTE PROF. MC. Jaime Esquivel Soto. 

VOCAL PROF. CD Luz del Carmen González García. 

SECRETARIO PROF. Dra. Gloria Gutiérrez Venegas. 

1er. SUPLENTE PROF. Dr. En C. José Domingo Méndez Francisco 

2do. SUPLENTE PROF. Q.F.B. Fernando Franco Martínez. 

Trabajo fue realizado en el laboratorio de Bioquímica de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Odontología UNAM.

Tutor: Dra. Gloria Gutiérrez Venegas.

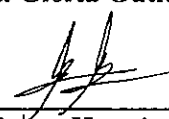
Asesor de Tema: Lic. Rosa María Celis.

Financiado por D.G.A.P.A. proyecto IN224398

Tutor del Tema: _____


Dra. Gloria Gutiérrez Venegas.

Sustentante: _____


Filiberto Hernández Sánchez.

AGRADECIMIENTOS:

- **Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme permitido ser parte de esta maravillosa institución.**
- **Agradezco al tutor del tema Dra. Gloria Gutiérrez-Venegas por la dirección del tema.**
- **Agradezco a Carla Portillo Garcés por la estrecha colaboración que mantuvimos para la realización de este proyecto.**
- **Agradezco a la Lic. Rosa María Celis por su asesoría en el análisis de resultados.**
- **Agradezco a Luis Arturo Contreras y Patricia Álvarez por compartir sus conocimientos y experiencia para el desarrollo de este proyecto.**
- **Agradezco a Silvia Maldonado, Ericka García, Alejandro Degollado, Ariana López, Ulises Tafoya, Carolina Barajas, Carlos Vázquez, Mauricio Peña, Perla Kawasaki, Silvia García, Elizabeth Ruíz y Armando Flores, todos compañeros en el laboratorio por su solidaridad apoyo y los momentos que compartimos juntos.**

DEDICATORIAS:

A DIOS: Por darme la vida y la oportunidad de realizar uno de mis más anhelados sueños.
A El que hace posible lo que para el hombre no lo es

A MIS PADRES: Por apoyarme siempre y depositar en mi su confianza.
A ellos que tantas veces se privaron de lo indispensable para darme lo necesario
Para vivir y estudiar.

A TODOS MIS AMIGOS: Quienes siempre se han detenido a escucharme, apoyarme y aconsejarme en esta difícil, pero muy linda etapa de Universitario.

ÍNDICE

1. RESUMEN.	
2. INTRODUCCION.	
3. ANTECEDENTES.....	8
3.1 Historia	8
3.2 Teorías	9
3.3.1 La leyenda del Gusano en el diente	10
3.3.2 Teoría Humoral	10
3.3.3 Teoría Vitalista	11
3.3.4 Teoría Química (ácido)	11
3.3.5 Teoría Parasitaria	12
3.3.6 Teoría Quimioparasitaria (acidogénica)	12
3.3.7 Teoría Proteolítica.	13
3.3.8 Teoría Proteólisis Quelación.	14
3.3.9 Teoría de la Sulfatasa.	15
3.3.10 Teoría de Complejos Fosforilados.	15
4. TRIADA DE KEYES.....	16
4.1 Factores Primarios (Esenciales).	17
4.2 Factores Secundarios.	22
5. EPIDEMIOLOGÍA DE LA CARIES.....	24
6. OBJETIVOS.....	29
6.1 Objetivos Generales	29
6.2 Objetivos Específicos.	29
7. HIPOTESIS.....	30
7.1 Hipótesis verdadera.	30
7.2 Hipótesis nula.	30

8. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	31
8.1 Criterios de Inclusión.	31
8.2 Criterios de Exclusión.	31
8.3 Criterios de Eliminación.	31
9. DESARROLLO DEL PROYECTO.....	32
9.1 Trabajo de campo.	32
9.2 Trabajo de laboratorio.	33
10. RESULTADOS.....	34
11. DISCUSION.....	40
12. CONCLUSIONES.....	41
13. ANEXOS	42
13.1 Anexo I (Material para el trabajo de campo)	42
13.2 Anexo II (Material para el trabajo de laboratorio)	43
13.3 Anexo III (Medio de cultivo “Rogosa S.L.”)	44
13.4 Anexo IV (Cultivo de las muestras)	45
13.5 Anexo V (Pruebas Bioquímicas)	46
13.6 Anexo VI (Características generales de Lactobacillus)	49
14. BIBLIOGRAFIA.....	50

1. RESUMEN.

La caries es la enfermedad de mayor prevalencia en el ser humano aún a pesar de un sin número de intentos por erradicarla sólo se ha logrado disminuir su incidencia. Es un padecimiento multifactorial que tiene como agente etiológico a los microorganismos de la placa bacteriana, principalmente *Streptococos* y *Lactobacilos*.

Ambos microorganismos ocasionan la desmineralización de los tejidos dentales por los ácidos que producen en su metabolismo. Los microorganismos encargados de la lesión inicial son los *Streptococos*, y los *Lactobacilos* son los colonizadores posteriores de las lesiones ya establecidas⁽¹³⁾

Sobre estos microorganismos está dirigido este estudio, el cual consistió caracterizar las especies de *Lactobacillus* presentes en saliva de niños de 6 a 12 años de edad, los cuales se han dividido en dos poblaciones, unos que han recibido tratamiento preventivo con aplicaciones tópicas de flúor, mientras que la otra población no recibe dicho tratamiento.

A cada uno de estos pacientes se elaboró una historia clínica. Se estimuló la salivación de los niños con cera, dicha muestra se depositó en tubos previamente esterilizados, fueron transportadas en un recipiente con hielo para mantener viables a las bacterias, las muestras fueron inoculadas en un medio de cultivo selectivo para *Lactobacilos* Agar Rogosa bajo condiciones de anaerobiosis a 37 grados centígrados.

Se efectuó el conteo de las colonias de *Lactobacilos* para establecer así su relación con el CPO reportado en la historia clínica. Se hicieron pruebas bioquímicas de fermentación de carbohidratos a cada muestra, las pruebas que se realizaron fueron: Manitol, Manosa, Sorbitol, Sacarosa, Lactosa, Maltosa, Glucosa, entre otros. Todo esto con el propósito de identificar la especie de *Lactobacilo* que se encuentra presente en cada población

Nuestros datos señalan que las poblaciones sujetas a estudio se dividieron en niños sin tratamiento de aplicaciones tópicas de flúor y niños con aplicaciones tópicas de flúor encontramos que en la muestra sujeta estudio no se presentaron diferencias significativas en los índices cariado perdido y obturado (CPO) fue de 3.90 ± 0.89 y 4.32 ± 0.89 . respectivamente. En otra serie de resultados encontramos que entre las poblaciones sujetas a estudio no se presentaron diferencias significativas entre las piezas cariadas, perdidas y obturadas, los niños presentaron índices CPO mayores de 4.27 ± 0.92 y las niñas de 3.35 ± 0.73 .

Es curioso encontrar que efectivamente hay una ligera diferencia en cuanto a las especies de *Lactobacilos* que se encuentran presentes en niños sin aplicaciones tópicas de flúor *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. salivarius*, *L. casei casei*, y en niños con aplicaciones tópicas se presenta en mayor porcentaje *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. pseudoplantarum* y *L. casei*.

Esto podría sugerirnos que el flúor es un ión que juega un papel muy importante no solo en el fortalecimiento de la estructura del esmalte sino también en la colonización de las especies de *Lactobacillus* presentes toda vez que se estableció la lesión.

2. INTRODUCCIÓN.

La mayoría de las enfermedades de la cavidad bucal son consecuencia de la infección y colonización de bacterias. Entre las bacterias asociadas a las alteraciones en la boca las bacterias promotoras de la caries hacen de ésta la enfermedad de mayor prevalencia en el hombre.

La palabra caries se deriva del latín y su significado es “podredumbre”, la caries dental se define como un proceso patológico de destrucción de los tejidos del diente causado por microorganismos.⁽¹¹⁾

La caries dental se desarrolla la mayoría de las veces en sitios con pobre mineralización, o en lugares donde el barrido mecánico de la placa es casi imposible. Uno de los principales factores que contribuyen al desarrollo de la caries es la adhesión de los microorganismos por la formación de grandes cantidades de ácido sintetizados a partir de la degradación de carbohidratos principalmente por estreptococos y lactobacilos los cuales sintetizan a partir de polisacáridos macromoléculas dextranos y levános que sirven de medio de unión entre los microorganismos y la superficie dura y lisa del diente.

El segundo paso esencial en la producción de la caries lo realizan los estreptococos y lactobacilos de la placa dentobacteriana, los cuales sintetizan grandes cantidades de ácidos a partir de la degradación de carbohidratos.⁽⁸⁾

En la actualidad existen medidas preventivas que ayudan a modificar el índice de prevalencia de caries, entre ellas se encuentran las aplicaciones tópicas de flúor, tratamiento con selladores de fosetas y adecuadas técnicas de cepillado.

3. ANTECEDENTES.

3.1 HISTORIA.

En la historia de la caries se propusieron algunas teorías que explicaban este proceso que de acuerdo al tiempo en que se elaboraron, comenzaron como un proceso de observación y posteriormente la investigación fue profundizando hasta determinar la etiología y desarrollo de la caries.

Los griegos explicaban este proceso como la consecuencia del desequilibrio de los fluidos corporales conocidos como humores, Hipócrates que era muy observador sugirió una relación de la caries con la acumulación de la comida y decía que intervenían factores locales y sistémicos.

Leeuwenhoek inventor del microscopio (1675) describía a pequeños gusanos extraídos de "un diente podrido" y afirmaba que ellos producían el dolor de dientes.

Siglos después, Parmlly (1819) se opuso rotundamente a la teoría vitalista y propuso que un agente químico no identificado era responsable de la caries. En 1847 Ficinus relacionó la placa dental con el proceso carioso y observó microorganismos a los que denominó "denticolae". Posteriormente en 1867 Leber y Rottenstein publicaron el hallazgo de microorganismos en los tubos de la dentina en lesiones de caries. Desde entonces; muchos investigadores han demostrado por medio de cortes teñidos la presencia de bacterias en los túbulos de la dentina con caries y en la placa dentobacteriana.⁽¹¹⁾

En 1883 y 1890 surge la teoría Quimioparasitaria propuesta por Miller, que junto a Black y Williams estimularon el interés de los investigadores del último medio siglo, a fin de definir la identidad, naturaleza y fisiología de los microorganismos que acompañan a la caries. En 1897 Williams reafirmó la teoría Quimioparasitaria al observar la presencia de placa dental en la superficie del esmalte. Esta placa provenía en cierta forma de la dilución y neutralización de los ácidos orgánicos que produce la saliva.

En 1924 Clarke y en 1949 Williams y Judson publicaron el aislamiento y caracterización de estreptococos de la caries humana. En 1944 Gottlieb sostuvo que la acción inicial se debía a que las enzimas proteolíticas atacaban las laminillas, propuso además que *S. aureus* se hallaba presente por la pigmentación amarilla que adquirían las piezas

dentales. En ese mismo año Frisbie describió la caries como un proceso proteolítico que incluía la despolarización y licuefacción de la matriz orgánica del esmalte.

Por esas fechas, en el año de 1949, Pincus sostuvo que los microorganismos proteolíticos primero atacan los elementos proteínicos, en la actualidad esta teoría queda desprovista de pruebas contundentes. En 1954 Orland y colaboradores pudieron estudiar el proceso cariogénico en condiciones estrictamente controladas en animales libres de gérmenes.

En 1960 Fitzgerald y Keyes confirmaron que las bacterias cariogénicas específicas son un factor esencial en la producción de caries en los animales ordinarios y encontraron que las bacterias cariogénicas en los hamsters podían ser erradicadas y con ello disminuía la actividad cariogénica.

En 1965 Fitzgerald, Jordan y Stanley averiguaron que las ratas gnotobióticas mantenidas con una dieta cariogénica no presentaban caries sino hasta que se infectaba la boca con streptococos obtenidos de una rata ordinaria que presentaba lesiones cariosas.

Orban logró producir caries en ratas gnotobióticas con una cepa de lactobacilos pero solo después de infectarlas con estreptococos durante tres generaciones.

En 1967 Edwardson y Krasse establecieron que la caries tenía relación directa con la ingesta de sacarosa y no con otros carbohidratos, y aseguraron que al sustituir esta por glucosa disminuía la incidencia de caries y la reproducción de estreptococos. ⁽⁹⁾

3.2 TEORÍAS DE LA CARIES DENTAL.

Como hemos revizado en líneas anteriores en la historia de la caries se han desarrollado múltiples teorías con el propósito de explicar de forma concreta a este padecimiento; los descubrimientos más recientes de fósiles de seres humanos nos proveen de datos precisos sobre la dentición del hombre a través de los años. Los arqueólogos siguen esforzándose por dar evidencias más certeras sobre la antigüedad de la Odontología.

La evidencia sobre caries ha sido encontrada en el *Homo sapiens*

desde la era paleolítica y es muy probable que el dolor asociado a los problemas dentales lo haya experimentado el hombre prehistórico en el inicio de la civilización.

En los siguientes párrafos explicaré algunas de las teorías propuestas para el origen de la caries dental.

3.2.1 TEORÍA DE LA CARIES DENTAL PRODUCIDA POR GUSANOS.

Probablemente las primeras referencias que se tienen acerca de los problemas dentales provienen de los antiguos Sumerios que asociaban a la caries dental como una invasión por gusanos. Esto se corrobora con textos encontrados sobre una tabla de arcilla encontrada cerca del río Eufrates en Mesopotamia que fueron escritos aproximadamente en el año 5000 a. C.

Ellos proponían un remedio para los dolores dentales el cual consistía en una mezcla de plantas y aceite, la cual era colocada dentro de la cavidad cariosa por un brujo, tras un extraño ritual.

Esta teoría sobre el gusano que causa la caries dental fue evocada también en la medicina Oriental, en Japón para ser más exactos. La historia temprana de la India, Egipto y las escrituras de Homero hacen referencia de que el gusano es el responsable del dolor dental.

Uno de los principales escritos médicos es el papiro de Ebers que fue escrito en el año 1500 a. C. En la sección 50 de este escrito se habla de las enfermedades dentales las cuales eran tratadas con sustancias químicas y vegetales. ⁽¹¹⁾

TEORÍAS ENDÓGENAS

3.2.2 TEORÍA HUMORAL:

La leyenda del gusano productor de la caries dental fue una novedad hasta los inicios del siglo. Dicha teoría fue refutada cuando los avances de

los médicos griegos establecieron su teoría humoral acerca de las enfermedades. Propusieron que el desequilibrio de cuatro elementos: Sangre, Flema, Bilis negra y Bilis Amarilla producían la enfermedad.

Galeno afirmaba que la caries era ocasionada por la corrosión de los humores, el tratamiento consistía en la aplicación de soluciones astringentes.

Aristóteles afirmaba que algunos elementos de la dieta se adherían a los dientes y estos restos de comida eran los responsables de las enfermedades dentales.⁽¹¹⁾

3.2.3 TEORÍA VITALISTA:

Fue propuesta por Hipócrates, aceptada por Celso, Galeno, Avicena e incluso los más entendidos científicos de la edad media, afirmaba que los dientes eran parte vital del cuerpo humano, por lo tanto al desencadenarse alguna enfermedad que afectara otra parte del organismo podría dañar también a los dientes. Él creía que la caries dental se producía por que el hueso que los sostenía padecía algún tipo de gangrena. Actualmente se cree que Hipócrates pudo deducir esto al observar algunos dientes que sufrían resorción interna como resultado de algún traumatismo.⁽¹¹⁾

TEORÍAS EXÓGENAS

3.2.4 TEORÍA QUÍMICA (ÁCIDO):

En el siglo XVI o XVII paralela a nuevos descubrimientos en la química surgió la teoría que afirmaba que los dientes eran destruidos por ácidos que se producían en la cavidad bucal. Estos ácidos eran de naturaleza inorgánica, esta teoría afirmaban que los ácidos eran resultado de la putrefacción de las proteínas que liberaban amoníaco y posteriormente se oxidan hasta producir ácido nítrico.

Otros aseguraban que la comida se descomponía y formaba ácido nítrico, sulfúrico y acético. Robertson en 1835 propuso que la caries era producida por la fermentación de la comida que se quedaba rodeando los dientes, pero aseguraba que la enfermedad se originaba por un proceso no

vital.

3.2.5 TEORÍA PARASITARIA:

La mayoría de la gente apoyaba la teoría que afirmaba que los compuestos químicos eran los responsables de la destrucción de los dientes, pero gracias al descubrimiento de Antoni Van Leeuwenhoek en 1632 nos presentó un mundo hasta entonces desconocido. Leeuwenhoek afirmaba que los microorganismos presentes en la placa blanquecina que desprendió de sus dientes eran los causantes de las enfermedades dentales y en particular de la caries.

En 1843 describió la presencia de parásitos filamentosos en una membrana removida del diente y en 1847 Ficinus describió a organismos filamentosos en la cutícula del esmalte y en lesiones cariosas.

Sin embargo son dos las teorías principales acerca de esta enfermedad: la teoría acidogénica propuesta por Miller en 1883 y la teoría proteolítica propuesta así mismo por Gottlieb en 1944 y en los últimos años por Schatz quien ha señalado una modificación a la teoría proteolítica que supone el proceso químico de Quelación.

3.2.6 TEORÍA QUIMIOPARASITARIA (ACIDOGÉNICA):

La idea de que los ácidos y microorganismos estuvieran implicados en la formación de la caries dental surgió hasta 1889 con Miller, este investigador combinó la teoría química con la teoría parasitaria.

Miller fue alumno de Roberto Koch y sus grandes estudios hechos sobre la microflora bucal fueron influenciados por Koch y otros investigadores de la época. De Koch aprendió el aislamiento e identificación de las bacterias y de Pasteur el proceso de fermentación de sacarosa a ácido láctico mediado por microorganismos. De los descubrimientos anteriores Miller afirmaba lo siguiente:

Por sí misma ninguna especie de microorganismo es capaz de producir caries, sino en realidad en este proceso interviene un microorganismo bucal

capaz de producir ácido.

- Los microorganismos de la boca, ya sean por secreción de enzimas o por su metabolismo degradan los carbohidratos fermentables produciendo ácido láctico, butírico, acético, fórmico y otros.
- Los carbohidratos de la dieta se alojan en los dientes y son los responsables de la formación de los ácidos que disolvían las sales de los dientes.
- Los ácidos solo desmineralizan el esmalte, y las fuerzas de la masticación ocasionan la solución de los tejidos del diente.
- Después de la solución del esmalte, la dentina es destruida de la misma forma. Por la invasión de los túbulos dentinarios.
- La destrucción final de la dentina resulta de la secreción de enzimas proteolíticas que digieren la porción orgánica de la dentina y forman una cavidad.

Finalmente considera a 3 factores como esenciales en el proceso de formación de la caries.

- a).- Los microorganismos en la producción de enzimas proteolíticas.
- b).- Los carbohidratos fermentables.
- c).- Los ácidos que causan la desmineralización del diente. ⁽¹¹⁾

3.2.7 TEORÍA PROTEOLÍTICA:

Propuesta por Gottlieb en 1944, sostuvo que la acción inicial se debía a que las enzimas proteolíticas atacaban las laminillas, las vainas de los prismas del esmalte y las paredes de los túbulos dentinarios.

Este investigador aseguraba que el proceso tan complejo de la caries tenía como base la digestión de las proteínas por ciertas enzimas y posteriormente se daba la disolución del tejido dental.

La superficie de cubierta encontrada sobre el diente en fosetas y fisuras son orgánicas en naturaleza. También el esmalte contiene pequeñas, pero significativas cantidades de materia orgánica.

El afirmaba que las lesiones cariosas fueron iniciadas por actividad proteolítica en un moderado pH alcalino y consideró que el proceso involucra destrucción y disolución de la matriz orgánica del esmalte.

Propuso que los microorganismos invaden el esmalte por medio de los túbulos e inician el proceso de caries por acción proteolítica y las sales inorgánicas son disueltas por bacterias acidogénicas.

Estas conclusiones fueron hechas después de analizar observaciones de cortes histológicos. Propusieron algún mecanismo molecular por el cual se acelera la disolución del tejido dental. ⁽⁹⁾

3.2.8 TEORÍA DE PROTEÓLISIS QUELACIÓN:

Esta teoría propuesta por Schatz (1955) implica una degradación microbiana de los componentes orgánicos y la disolución de los minerales del diente por el proceso de quelación.

Sostiene que un ión metálico inorgánico con por lo menos dos grupos funcionales ricos en electrones tiene la función de un quelato el cual puede encontrarse en una sola molécula orgánica, el agente quelante es una molécula capaz de sujetar un ion metálico y retenerlo en una especie de pinza y de así formar un anillo heterocíclico.

Dicha teoría sugiere que la caries es una destrucción bacteriana de los dientes en la que el primer ataque se dirige principalmente sobre los componentes orgánicos del esmalte. Los productos de descomposición de esa materia orgánica tienen propiedades quelantes y por lo tanto disuelven los minerales del esmalte.

La palabra quelato proviene de " Chele " que significa desgarrar y se refiere a los componentes que son capaces de atraer iones metálicos como calcio, hierro, cobre, zinc y otros metales por unión a su valencia secundaria.

Los quelatos resultantes son no iónicos y usualmente solubles, las sustancias biológicas como los aminoácidos y otros queladores pueden ser usados para remover calcio y otros iones metálicos de la solución.

El ácido láctico se produce en mayor cantidad por la placa bacteriana, este puede disolver la apatita del esmalte y después de una neutralización dar origen a un agente quelante pero se ha prestado poca atención a esta posibilidad.

Los quelantes de calcio son compuestos que contienen fósforo como : polifosfato y hexametrafosfatos, que ejercen fuerte atracción sobre dicho catión. De acuerdo con la teoría de la Proteólisis - Quelación la caries dental resulta de la acción proteolítica de bacterias y enzimas sobre la matriz orgánica del esmalte sin desmineralización, esto produce una lesión cariosa inicial con la liberación de numerosos complejos como: Aminoácidos,

Polifosfatos y ácidos orgánicos. Estos agentes entonces disuelven los cristales de apatita.

Menos del 1 % de la matriz del esmalte es por naturaleza orgánica, esto sugiere que después de su degradación puede haber un aumento significativo en la formación de agentes quelantes que pueden disolver más del 96 % de la materia mineral. En un tiempo la Proteólisis - Quelación se consideró como un importante fenómeno biológico, pero su papel primario en la etiología de la caries no ha sido corroborado.⁽⁹⁾

OTRAS TEORÍAS SOBRE LA ETIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL.

3.2.9 TEORÍA DE LA SULFATASA.

Propuesta por Pincus (1950) quien asegura que las bacterias sulfatasas hidrolizan el mucoítin sulfato del esmalte y la condroitín sulfato de la dentina produciendo ácido sulfúrico que en su momento ocasiona la descalcificación de los tejidos dentales. La concentración de polisacáridos sulfatados en el esmalte es muy pequeña y no es un sustrato accesible para la degradación enzimática, ésta es una muy poco certera hipótesis acerca de la degradación del esmalte dental.

3.2.10 TEORÍA DE LOS COMPLEJOS DE FOSFORILACIÓN.

Esto puede ser fácilmente demostrado, por la formación de fosfatos por la placa bacteriana durante la glucólisis aerobia y anaerobia, además de la síntesis de polifosfatos.

El elevado empleo de fosfatos en la placa provoca un disturbio local en el equilibrio de fosfatos en la placa y el esmalte, resultando de esto la pérdida de fosfato inorgánico del esmalte.

Los compuestos complejos de calcio producidos por las bacterias causan una fuerte desintegración del diente. La saliva es una abundante fuente de fosfato inorgánico para las bacterias.

Entonces es muy poco probable que la depleción de fosfato en la placa por el metabolismo microbiano resulte del fosfato proveniente del esmalte.

La hipótesis de que la fosfatasa alcalina interviene en la liberación de fosfato del esmalte no ha sido comprobada experimentalmente. ⁽¹¹⁾

En la actualidad existe una teoría que agrupa todos los conocimientos aportados por los múltiples descubrimientos relacionados con la etiología de la caries, dicha teoría fue propuesta por Keyes y a continuación se trata con mayor amplitud.

4 TRIADA DE KEYES.

Tal vez la causa del retraso en el conocimiento de la caries dental es debido a que se ha dado demasiada importancia al conocimiento de las teorías de formación de la caries y no a la cadena biológica de acontecimientos que llevan a su iniciación.

En el modelo epidemiológico de cualquier estado de enfermedad es importante la interacción de tres factores primordiales para que ésta se desarrolle, ellos son: el huésped, el agente agresor y el medio ambiente.

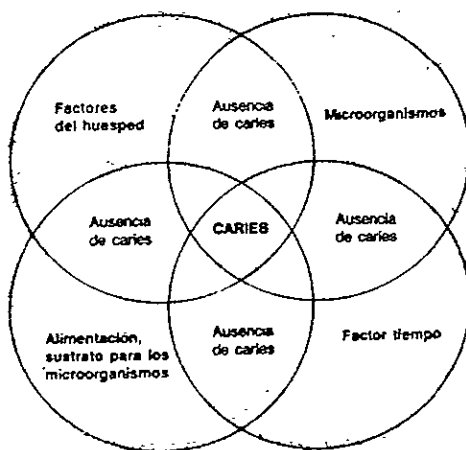


Fig. 1 Esquema modificado a lo propuesto por Keyes.

En este esquema se muestran los factores que influyen en el desarrollo de la caries como son el huésped, los microorganismos, la alimentación en relación con el tiempo. Tomada del libro Odontología Conservadora W. Keterl, Mason – Salvat Odontológica 1994

La hipótesis de que la fosfatasa alcalina interviene en la liberación de fosfato del esmalte no ha sido comprobada experimentalmente. ⁽¹¹⁾

En la actualidad existe una teoría que agrupa todos los conocimientos aportados por los múltiples descubrimientos relacionados con la etiología de la caries, dicha teoría fue propuesta por Keyes y a continuación se trata con mayor amplitud.

4 TRIADA DE KEYES.

Tal vez la causa del retraso en el conocimiento de la caries dental es debido a que se ha dado demasiada importancia al conocimiento de las teorías de formación de la caries y no a la cadena biológica de acontecimientos que llevan a su iniciación.

En el modelo epidemiológico de cualquier estado de enfermedad es importante la interacción de tres factores primordiales para que ésta se desarrolle, ellos son: el huésped, el agente agresor y el medio ambiente.

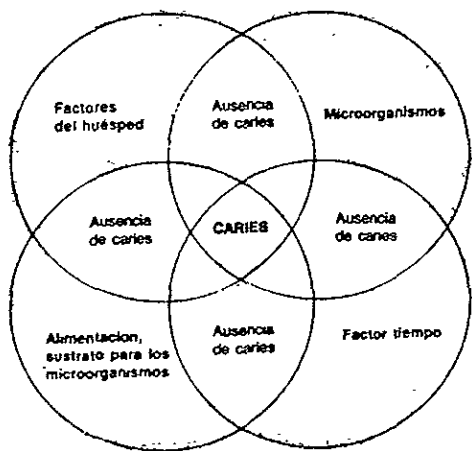


Fig. 1 Esquema modificado a lo propuesto por Keyes.

En este esquema se muestran los factores que influyen en el desarrollo de la caries como son el huésped, los microorganismos, la alimentación en relación con el tiempo. Tomada del libro Odontología Conservadora W. Keterl, Mason – Salvat Odontológica 1994

De estos factores primarios también se derivan otros factores; denominados factores secundarios. Muchas enfermedades son vistas como el producto de la interacción de los factores primarios y secundarios, por lo tanto son consideradas en muchos casos como multifactoriales. Por todo esto dicho modelo es aplicable a la caries dental. ⁽¹⁸⁾

4.1 LOS FACTORES PRIMARIOS SON:

La placa bacteriana:

Las bacterias juegan un papel esencial en el desarrollo de la caries dental y su importancia ha sido corroborada en múltiples experimentos, entre los cuales destacan el empleo de penicilina por McClure y Hewitt en 1946, lo cual disminuye considerablemente la aparición de caries en ratas.

Orland en 1954 utilizando animales de estudio libres de bacterias obtenidos por cesárea e inmediatamente trasladados en una cámara estéril donde recibían alimentos con la mayor esterilidad posible, 22 ratas de estas fueron alimentadas con una dieta cariogénica y para sorpresa de todos permanecieron libres de caries.

Algunas de estas ratas fueron trasladadas a una jaula junto a otras ratas que llevaban una vida normal y al poco tiempo ya presentaban lesiones cariosas.

Keyes hizo múltiples experimentos con ratas gnotobióticas para determinar la especificidad de algunos microorganismos en la etiología de la caries, a un grupo de ratas se alimentó en condiciones normales con una dieta cariogénica y se inocularon con enterococos y bacilos proteolíticos gram negativos, en poco tiempo presentaban ya lesiones cariosas. Sin embargo algunas ratas fueron inoculadas con bacilos pleomórficos y no presentaron lesiones cariosas. ⁽¹¹⁾

En conclusión estos estudios demuestran que:

- Los microorganismos son un requisito para la iniciación de la caries dental
- Un solo tipo de microorganismo (por ejemplo, enterococos) es capaz de inducir caries.
- La habilidad para producir ácidos es un requisito para la inducción de caries, pero no todos los ácidos producidos por los organismos son cariogénicos.
- La especie de estreptococos que son capaces de inducir caries, también sintetizan polisacáridos extracelulares como: dextranos o levanos, y no

todos los microorganismos que producen polisacáridos extracelulares son capaces de producir caries.

Los microorganismos varían enormemente en su capacidad (virulencia) para producir caries. ⁽¹⁸⁾

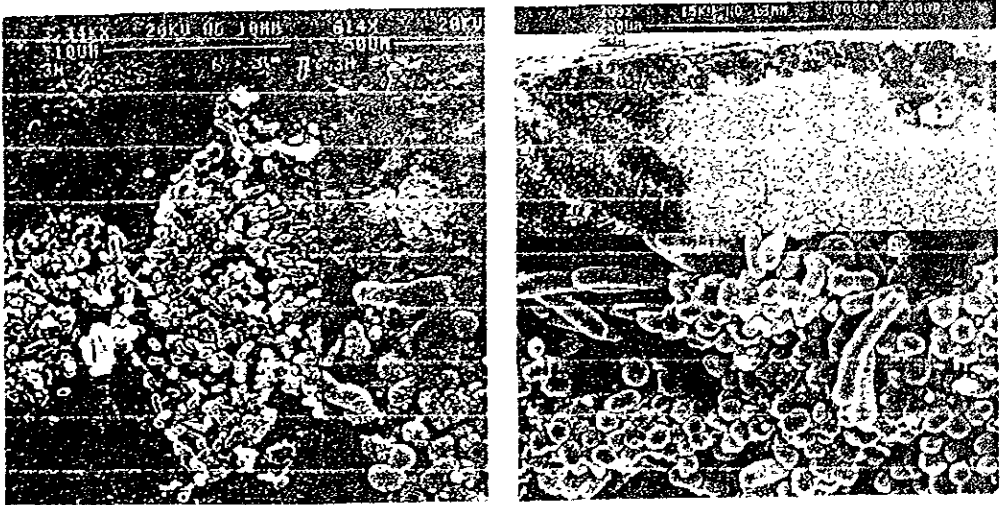


Fig. 2 Micrografía electrónica de los microorganismos presentes en la placa dentobacteriana.

En la figura de la izquierda se muestra la formación de placa después de tres horas de realizarse la higiene bucal y a la derecha se muestra la placa después de 24 hrs. en donde abundan los bacilos. Tomada del libro Odontología Conservadora W. Keterl, Mason – Salvat Odontológica 1994.

Como afirmaba Keyes (Fig. 2) los microorganismos que se encuentran en la cavidad bucal son en principio colonias normales y solo son patológicos cuando se acumulan en exceso. Para ello, los microorganismos que se acumulan y siempre pertenecen a un amplio espectro de especies deben presentar determinadas propiedades metabólicas, en el caso de la placa cariogénica, dichas propiedades son: la formación de ácidos, la tolerancia a los mismos y la síntesis de polisacáridos extracelulares. ^(11, 13)

b) Medio ambiente (Sustrato)

La composición y la calidad de la dieta, así como la frecuencia de la ingesta, no solo tienen efectos sobre los procesos metabólicos en el intestino y en los líquidos corporales (sistémicos), sino que también produce efectos colaterales sobre la cavidad bucal.

Desde el punto de vista odontológico, estos efectos colaterales bucales son mucho más importantes que la influencia sistémica de la dieta, aunque el mantenimiento de una dieta completa y sobre todo de un aporte óptimo de flúor también es significativo para el desarrollo y mantenimiento de la salud dental.

Las condiciones dietéticas en los países desarrollados trae como consecuencia una ingesta frecuente de azúcares que se convierten en ácidos desmineralizadores por acción de las bacterias de la placa dental. ⁽¹⁸⁾

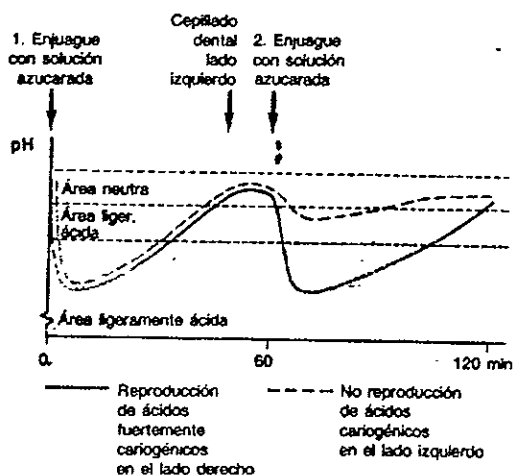


Fig. 3 Esquema del proceso de formación de ácidos en la placa después de enjuagues sucesivos con una solución de azúcar al 10%. En el derecho se repitió la intensa y cariogénica formación de ácidos. En la zona izquierda de medición del pH, donde se eliminó la placa, no volvieron a formarse ácidos.

Tomada del libro Odontología Conservadora W. Keterl, Mason – Salvat Odontológica 1994.

Todos los mono y disacáridos a concentraciones altas constituyen sustratos disponibles para las bacterias de la placa, por lo tanto son fuertemente cariogénicas, dentro de este grupo de azúcares, la variación en la estructura química de una molécula a otras tiene una influencia relativamente pequeña sobre la cariogenicidad, aunque algunos experimentos con animales indican que la maltosa, la fructosa y sobre todo la lactosa son algo menos cariogénicos que la sacarosa.

Sin embargo cabe destacar que la lactosa es también importante, pues cada vez son mas numerosos los informes sobre la incidencia de caries en niños a los cuales se les mantiene durante demasiado tiempo en lactancia natural, donde se les amamanta con demasiada frecuencia. ⁽⁹⁾

Cualquier ingesta de carbohidratos induce una disminución del pH alrededor de una media hora sobre la superficie dentaria recubierta por placa, la suma de estos intervalos de tiempo en los que el esmalte se desmineraliza aumenta con la frecuencia de la ingesta (fig. 4).

La incidencia de caries se relaciona con la frecuencia de ingesta de azúcar y también con el tiempo en que el azúcar permanece en la cavidad bucal. El factor decisivo para la cariogenicidad no es la cantidad total de azúcar administrada, sino la frecuencia con la que se administra.

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 fermentables. Los carbohidratos son de origen dietético, pues la saliva humana recién secretada solo contiene cantidades despreciables de carbohidratos cualquiera que sea el nivel de azúcares en la sangre.

Los carbohidratos salivales están entrelazados a proteínas principalmente en forma de glucoproteínas como sialomucina y fucomucina, las cuales son resistentes a la degradación por acidógenos bucales.

El mayor incremento en la incidencia de caries se presenta cuando la concentración de azúcar supera el 20 % de los alimentos de la dieta. Esta barrera rara vez se alcanza en los alimentos naturales (excepciones: La miel y los frutos secos que alcanzan del 60 al 80 % de azúcar).

La formación de placa bacteriana tras la ingesta de fruta fresca no es a veces demasiado marcada. Se explica así la escasa cariogenicidad de la dieta vegetariana, además que la fruta y verdura en crudo no se adhieren.

Los substitutos del azúcar fundamentalmente del grupo de las hexosas-alcohol y pentosas-alcohol de los que son prototipos el sorbitol y el xilitol poseen una cariogenicidad escasa o nula, aunque son difícilmente degradados.

c) Huésped.

La susceptibilidad dental es un concepto difícil de entender, ya que muchos exageran en cuanto al manejo de los términos de dientes buenos o duros y dientes blandos o no bien calcificados. La idea que unos dientes malos o blandos por naturaleza que no pueden mantenerse sanos a pesar de todos los esfuerzos lleva al fatalismo y puede desmotivar a cualquier paciente a hacer algo en relación con su salud dental.

Los dientes hipoplásicos y por tanto, precariamente mineralizados no tienen un mayor riesgo de sufrir caries que los que muestran una estructura normal. Naturalmente cualquier diente es susceptible en principio a la desmineralización por ácidos cariogénicos relacionados con la placa, así como la erosión por efecto de los ácidos fuertes contenidos en la alimentación y las bebidas. ⁽¹⁴⁾

Aunque la apatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ó F_2 se encuentre en condiciones ideales como la sustancia más dura del organismo humano y resulte muy difícil de disolver no es insoluble, sobre todo en un medio ácido. Ello se debe a que en las soluciones con elevada concentración de protones, los grupos fosfato de la apatita pueden disociarse.

Para compensar cada dos grupos de fosfato disociados, a los que se han transferido dos cargas positivas, la red de apatita libera dos cargas en forma de un ion calcio (con doble carga positiva). De este modo el mineral del diente se descalcifica. El esmalte bien mineralizado contiene un 10 % en volumen de poros llenos de agua entre su red cristalina.

En el esmalte de los dientes recién erupcionados, en el que el volumen de los poros supera el 10 %, aunado a esto el efecto de los ácidos que ensanchan los poros, resulta más fácil la difusión y por lo tanto el intercambio de sustancias y con ello la desmineralización. ^(6, 8)

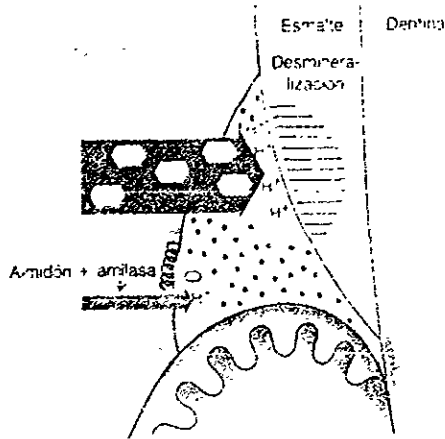


Fig 4 . Difusión de las pequeñas moléculas de azúcares al interior de la placa da lugar a una gran formación de ácidos en la superficie dental. Sin embargo, las grandes moléculas de almidón quedan sobre la placa y se degradan relativamente poco a maltosa y glucosa. Tomada del libro Odontología Conservadora. W. Ketterl Mason- Salvat Odontológica. 1994.

Por otra parte, si un diente recién erupcionado se mantiene sin placa dental, sus perspectivas de futuro serán buenas, en primer lugar no se producirán ácidos desmineralizadores a su alrededor, y en segundo resultará más accesible a la saliva que tiene un gran potencial mineralizador y remineralizador.

La saliva contiene tal cantidad de iones fosfatos y calcio, que en condiciones neutras de pH puede considerarse en relación con la apatita como una solución sobresaturada de calcio y fosfato, y que contiene además sistemas tampón neutralizadores. ⁽¹⁸⁾

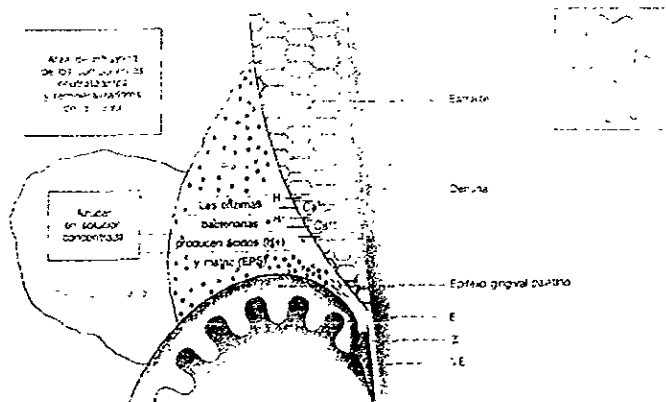


Fig. 5. Descalcificación cariogénica ocasionada por la formación de ácidos en la placa a partir de los azúcares de la dieta. El exudado del surco gingival (E) también puede constituir un sustrato para los microorganismos que, sin embargo, son más bien patógenos peridontales que cariogénicos. El ión calcio (Ca^{2+}) se libera de la molécula de hidroxiapatita intercambiándose por dos protones (H^+); este proceso es reversible (remineralización).

EPS = polisacárido extracelular que forma la matriz de la placa;
 Z = cemento de la raíz. VE = epitelio de unión. Tomada del libro Odontología Conservadora. W. Ketterl Mason- Salvat Odontológica. 1994.

La saliva y su acceso sin obstáculos a las porciones del esmalte a menudo traumatizadas por efecto de los ácidos y que precisan reparación son factores importantes para el mantenimiento dental.

Dentro de los factores relacionados con el huésped también esta su irregularidad anatómica de las piezas dentales que puede hacerlos susceptibles a la caries en cierta forma, pues hay zonas no de forma anatómica, sino más bien como nichos microbiológicos entre los que se encuentran:

- Fisuras y pequeñas cavidades.
- Zonas interproximales.
- Tercio gingival de las superficies libres
- Superficies radiculares.
- Zonas de retención de bacterias adherentes y de difícil acceso durante la autolimpieza bucal.

- Zonas de retención de volúmenes relativamente grandes de restos alimenticios (que contienen azúcares)
- Nichos en los que las condiciones son especialmente favorables para las bacterias formadoras de ácidos y a la vez tolerantes a nichos ácidos (flora cariogénica específica de la zona) ⁽¹³⁾ (Fig. 5).

5. EPIDEMIOLOGIA DE LA CARIES.

La epidemiología es la disciplina científica que estudia la aparición y extensión de las epidemias, así como la lucha contra las mismas, establece relaciones entre dichas enfermedades y la edad, el sexo, la situación geográfica, la raza, la estructura social y la alimentación, además de que tiene gran importancia para muchas disciplinas médicas, incluida en estas la Odontología, la Estomatología y la Cirugía Maxilofacial.

Sin duda alguna la caries dental es una enfermedad infecciosa compleja y transmisible descrita como destrucción de los tejidos del diente. Es una enfermedad de distribución universal, de carácter agudo o crónico y es la causa principal de la pérdida de los dientes antes de los 25 años. ⁽¹⁸⁾

Recientes estudios realizados por el Departamento de Salud y Servicios Humanos indican que el 91.9 % de adultos y el 91.2 % de adultos geriatras padecen caries coronal.

Esto representa una reducción sustancial en comparación con estudios previos. Los factores responsables de esta tendencia incluyen la fluoración del agua potable, programas escolares de prevención, el conocimiento de los factores relacionados con la dieta y el incremento en la concientización sobre la Salud General del paciente.

Gracias a ella se han logrado múltiples avances en el área odontológica entre los cuales destacan :

- El contenido de Flúor del agua potable y la incidencia de caries presentan una correlación directa.
- En zonas de clima moderado la adición de 1 ppm. de flúor al agua potable ha reducido en un 50 - 60 % la incidencia de caries en la población.

Dado que las lesiones cariosas no pueden producirse sin la acumulación de placa dental, suelen desarrollarse preferentemente en las superficies habitualmente sucias. Las fisuras y las pequeñas cavidades, así como las superficies interproximales, son las que ocupan el primer lugar entre estas zonas, que también son de difícil acceso a la hora del cepillado.

- Zonas de retención de volúmenes relativamente grandes de restos alimenticios (que contienen azúcares)
- Nichos en los que las condiciones son especialmente favorables para las bacterias formadoras de ácidos y a la vez tolerantes a nichos ácidos (flora cariogénica específica de la zona)⁽¹³⁾ (Fig. 5).

5. EPIDEMIOLOGIA DE LA CARIES.

La epidemiología es la disciplina científica que estudia la aparición y extensión de las epidemias, así como la lucha contra las mismas, establece relaciones entre dichas enfermedades y la edad, el sexo, la situación geográfica, la raza, la estructura social y la alimentación, además de que tiene gran importancia para muchas disciplinas médicas, incluida en estas la Odontología, la Estomatología y la Cirugía Maxilofacial.

Sin duda alguna la caries dental es una enfermedad infecciosa compleja y transmisible descrita como destrucción de los tejidos del diente. Es una enfermedad de distribución universal, de carácter agudo o crónico y es la causa principal de la pérdida de los dientes antes de los 25 años.⁽¹⁸⁾

Recientes estudios realizados por el Departamento de Salud y Servicios Humanos indican que el 91.9 % de adultos y el 91.2 % de adultos geriatras padecen caries coronal.

Esto representa una reducción sustancial en comparación con estudios previos. Los factores responsables de esta tendencia incluyen la fluoración del agua potable, programas escolares de prevención, el conocimiento de los factores relacionados con la dieta y el incremento en la concientización sobre la Salud General del paciente.

Gracias a ella se han logrado múltiples avances en el área odontológica entre los cuales destacan :

- El contenido de Flúor del agua potable y la incidencia de caries presentan una correlación directa.
- En zonas de clima moderado la adición de 1 ppm. de flúor al agua potable ha reducido en un 50 - 60 % la incidencia de caries en la población.

Dado que las lesiones cariosas no pueden producirse sin la acumulación de placa dental, suelen desarrollarse preferentemente en las superficies habitualmente sucias. Las fisuras y las pequeñas cavidades, así como las superficies interproximales, son las que ocupan el primer lugar entre estas zonas, que también son de difícil acceso a la hora del cepillado.

Dentro de las pequeñas cavidades, se incluyen como es natural las *foramina caeca* de los incisivos y los *foramina molaria*. Los sistemas de fisuras de los premolares y molares son especialmente susceptibles, ya que en un gran porcentaje son muy estrechos y a veces presentan una morfología en ampolla. ⁽¹⁸⁾

La caries de superficie lisa tiene como zonas predilectas las del cuello de los dientes. La caries radicular es actualmente una lesión cariosa que se ve con relativa frecuencia. Las placas blancas de desmineralización que pueden observarse en la superficie del esmalte, por lo demás intacto, pueden curarse en determinadas condiciones.

Como ya se mencionó anteriormente la caries dental es una enfermedad multifactorial en la que existe la interacción de tres factores principales que son el huésped, la microbiota y el sustrato (dependiente de la dieta). Además de estos factores debería tomarse en cuenta el tiempo de interacción entre ellos.

A lo largo de la historia el consumo de sacarosa ha estado asociado con el aumento de la incidencia y severidad de la caries. No obstante los programas de educación y prevención de la caries es cada vez más frecuente, su incidencia en países poco desarrollados no ha podido ser controlada.

a).- INDICE DE CARIES

Para definir y registrar el estado de un diente o de una dentición completa, son necesarios los símbolos correspondientes. Para desarrollar un buen índice de caries, se han propuesto toda una serie de modelos. El que más se ha destacado y más se ha utilizado es el índice DMF, que en la dentición permanente se refiere a 28 piezas.

Por razones de proximidad no suelen tenerse en cuenta los terceros molares. DMF son las siglas D- Decay (cariado), M- Missing (ausentes) y F- Filled (obturados). D + M + F constituye, pues, la suma de los dientes que ya no están sanos.

Sin embargo, el diente como unidad de medida pronto demostró ser demasiado tosco. Ello se hace patente al observar dos maxilares, en uno de los cuales existen cuatro molares que presentan, por ejemplo una obturación oclusal o un proceso carioso, mientras que en el otro existen cuatro molares con obturaciones MOD previas. En ambos casos la cifra de DMF es de 4 aunque la diferencia entre ellos es evidente. ⁽¹⁸⁾

Por tanto, para poder expresar de un modo más exacto el estado de salud dental, se incluyó la valoración de las diferentes superficies dentarias distinguiendo así entre:

- DMF - T Teeth (diente)
- DMF - S Surfaces (Superficies)

Para este último índice, se considera que cada diente posterior tiene cinco superficies (oclusal, vestibular, lingual, mesial y distal) y los incisivos como es lógico cuatro superficies (falta la oclusal). Este índice puede aplicarse también con algunas modificaciones a la dentición temporal. Para su denominación se utilizan letras minúsculas: dmf - t o dmf- s.

En algunos libros todavía se puede encontrar la denominación def. Esta denominación corresponde a dientes extraídos o que han de ser extraídos a causa de la caries. De este modo se descarta la ausencia de dientes temporales debido al cambio de la dentición.

Este esquema que se ha impuesto por su sencillez para registrar la incidencia de caries tampoco esta completamente exento de problemas. Por ejemplo, cuando se emplea el índice DMF - S, resulta difícil valorar el componente M (extracciones). Se ha aconsejado registrar los dientes ausentes con la cifra equivalente de 4 o bien 5 superficies dentarias cariosas, pero los dientes pueden extraerse por otras causas, aparte una intensa afectación cariosa y por otra parte los dientes con coronas (que también se registran como 4 o 5 superficies dentarias) pueden estar completamente libres de caries, por todo lo cual dicho procedimiento no resulta correcto.

Por lo general este tipo de indeterminaciones se resuelven registrando sólo las cifras de DF o df para valorar el estado de salud dental. Sobre todo cuando se trata de exploraciones realizadas en niños y adolescentes, el componente M suele ser insignificante.

También son especialmente problemáticas las situaciones en las que se ha realizado una obturación por un defecto carioso proximal en la zona lateral del diente y abarcando dos superficies (MO o DO). En estos casos, aparece en el registro una superficie F adicional, en la que no existía previamente lesión cariosa.

Todos estos casos especiales demuestran que el índice DMF tiene también un cierto grado de error, pero sigue siendo el método más utilizado en todo el mundo y la única posibilidad de hacer comparaciones internacionales entre los estudios epidemiológicos.

Por tanto, se incluyeron en el componente D cuatro subgrupos (D 1-4)

- 1 - Caries del esmalte (capa externa del esmalte).
- 2.- Caries del esmalte (que afecta también la capa interna del esmalte).
- 3.- Caries con afectación de la dentina.
- 4.- Caries con intensa afectación de la dentina.

En resumen, se puede afirmar que el índice DMF (dmf) que a pesar de ser insuficiente en algunos aspectos, es prácticamente el único que se emplea hoy en día a nivel internacional, junto con sus variantes constituye un principio lo suficientemente exacto para registrar la incidencia de la necesidad de tratamiento, así como la efectividad de las medidas profilácticas con la caries, ya sea en grupos o en poblaciones completas.⁽¹⁸⁾

La trascendencia de las investigaciones sobre el estado de la salud bucal depende en gran medida de la exactitud en el registro de los hallazgos. Las diferencias inter e intraindividuales, a veces considerables, descritas por muchos autores en el diagnóstico de la caries, son inevitables, pero pueden reducirse considerablemente mediante una adecuada capacitación. Para ello, es importante una estandarización en los siguientes campos.

- Metodología de la exploración y criterios de diagnósticos.
- Equipo (es decir, condiciones para la exploración)
- Proceso de registro.

La necesaria capacitación de los investigadores sólo puede llevarse a cabo tomando como base esta estandarización. Por lo cual es recomendable la existencia de condiciones externas óptimas, como el instrumental adecuado (sondas y espejos), una buena iluminación, colocar siempre el sujeto que hay que explorar en la misma posición y colocarse el explorador en la posición correcta por ejemplo.

ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO SOBRE LA INCIDENCIA DE CARIES

La asamblea de Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó en 1979 una resolución en la que se definían una serie de objetivos para el año 2000 bajo el título de "Salud para Todos". Para el sector de la salud dental, se propuso como objetivo deseable el de 3 dientes DMF a los 12 años.

Un año después la FDI (Federación Dental Internacional) completo esta propuesta con otros 5 puntos y publicó los siguientes "Objetivos globales de salud dental para el año 2000".

- Ausencia de caries en el 50 % de la población entre los 5 y 6 años.
- No más de 3 dientes DMF a los 12 años.
- Conservación de la dentición completa en el 85 % de la población a los 18 años.
- Reducción de los dientes perdidos entre los 35 y los 44 años al 50 % de la cifra actual; el 75 % de este grupo debe conservar al menos 20 dientes funcionalmente activos.
- Disminución de los dientes perdidos a los 65 años en un 25 % de la cifra actual; el 50 % de este grupo debe conservar al menos 20 dientes funcionalmente activos.

A este respecto se considera necesaria:

- La creación de un sistema de datos para controlar las modificaciones que se produzcan en la salud bucal.
- La consecución de estos objetivos proporcionará " un nivel más aceptable de salud para todos", que permitirá a cada uno llevar una vida social y económicamente productiva.

Para ello, cada país deberá interpretar, en función de su propio trasfondo social y económico, el estado de salud, el patrón de morbilidad de la población y el desarrollo estatal, formulando con la ayuda de los indicadores propuestos, objetivos nacionales y regionales que mejoren la forma más rápida y adecuada posible la salud bucal, empleando para ello los propios recursos. ⁽¹⁸⁾

6 OBJETIVOS.

6.1 OBJETIVOS GENERALES.

- Establecer la relación de las especies de lactobacillus con la actividad cariogénica en niños de 10 a 12 años de edad.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Se identificarán y caracterizarán las especies de Lactobacilos en saliva de niños de una población de niños de 6 a 12 años de edad, con y sin tratamiento de flúor, con alto y bajo CPO.
- Se identificará y señalará la relación de las especies en ambas condiciones: con y sin tratamiento de flúor, con alto y bajo CPO.
- Se analizará y describirá si el tratamiento con flúor determina un cambio en las especies de Lactobacilo.
- Se analizará y demostrará la actividad cariogénica en relación con la Unidad Formadora de Colonias (CFU).
- Enunciar el comportamiento de las especies de Lactobacilos y valorar su fortaleza y debilidad en cuanto a desarrollo de la caries bajo dos condiciones; en niños con tratamiento de flúor y en niños sin tratamiento de flúor.

7 HIPOTESIS.

7.1 HIPOTESIS VERDADERA:

- La elevada actividad cariogénica se relaciona con un índice de unidad formadora de colonias (CFU) para Lactobacilos.
- Las especies de Lactobacilos serán diferentes en niños con tratamiento de flúor que sin tratamiento de flúor.
- Los hábitos alimenticios juegan un papel importante en el desarrollo de caries.

7.2 HIPOTESIS NULA:

- Las especies de Lactobacilos no serán diferentes en niños con tratamiento de flúor que sin tratamiento de flúor.
- Los hábitos alimenticios no juegan un papel importante en el desarrollo de caries.
- La elevada actividad cariogénica no se relaciona con la elevada unidad formadora de colonias (CFU) para Lactobacilos.

8. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La prevención de la caries con aplicaciones tópicas de flúor puede ser un factor que determine que especies de Lactobacilos componen la microbiota bucal considerando que la Unidad Formadora de Colonias para Lactobacilo están en relación directa con la actividad cariogénica reportada en el CPO durante la elaboración de la Historia Clínica.

Durante mucho tiempo se planteaba la probabilidad de desarrollar una vacuna que pusiera fin a este padecimiento, pero múltiples fracasos han marginado esta probabilidad y ahora se opta por elaborar programas de prevención, donde las aplicaciones de flúor han mostrado una buena eficacia.

SELECCIÓN DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA Y DE LA POBLACION

8.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Todo individuo que quiera participar en el proyecto voluntariamente.
- Todo individuo cuya edad se encuentre entre los 6 y 12 años
- Todo alumno que haya recibido tratamiento con flúor.
- Todo individuo que no haya recibido tratamiento con flúor.
- Individuos que no hayan comido por lo menos 2 horas antes de la toma de muestra
- Individuos con alto y bajo CPO

8.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Todo individuo que no quiera participar en el proyecto.
- Todo individuo cuya edad no se encuentre entre el rango de 6 a 12 años.
- Individuos que estén bajo tratamiento médico.
- Individuos con tratamiento de ortodoncia
- Individuos que hayan comido 2 horas antes de la toma de muestras

8.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Todo individuo que durante el tiempo que dure el proyecto se enferme y esté bajo tratamiento médico.
- Todo individuo que durante el tiempo que dure el proyecto reciba tratamiento de ortodoncia.

9 DESARROLLO DEL PROYECTO (METODOLOGÍA)

Para la obtención de los índices de susceptibilidad a caries se dividió la investigación en dos áreas:

- Trabajo de campo
- Trabajo de laboratorio

9.1 TRABAJO DE CAMPO

MÉTODO PARA EL TRABAJO DE CAMPO:

Para el trabajo de campo se escogieron dos poblaciones una que recibiera tratamiento preventivo con flúor y la otra sin dicho tratamiento preventivo. Se recabaron los datos para elaborar una historia clínica como se indica en el Anexo I.

Se tomaron las muestras con un procedimiento indicado y utilizando el material necesario para el mismo, (Anexo.1).^(16,17)

Posteriormente dichas muestras fueron transportadas al laboratorio para su análisis correspondiente .

Población con tratamiento de flúor:

Se tomaron muestras de saliva a 22 alumnos de la escuela primaria Ejército Nacional, Delegación Coyoacán, Col. Copilco Universidad, turno matutino, clave CCT09DPR1976B, a alumnos de primer año a sexto año.

Población sin tratamiento de flúor:

Se tomaron muestras de 23 alumnos de la escuela Primaria “ Ford 20”, Delegación Alvaro Obregón. Col. Puente Colorado. Clave. 32-1576-239-32-X-021.

Se estimuló la producción de saliva con cera rosa, se masticó como chicle durante unos minutos, se les pidió que depositaran la saliva por medio del cono en el tubo de ensayo estéril. Se recolectaron todos los tubos de ensayo y se guardaron en una caja de unisel con hielo para su transporte al laboratorio.

Se elaboró la Historia Clínica, con los siguientes datos

Fecha

Nombre

Sexo

Edad

Piezas dentales Cariadas © d: caries con pérdida de la estructura dental o procesos cariosos de superficie s: caries de superficie donde no existe pérdida considerable de la estructura dental, Perdidas (P), Obturadas (O). Deciduas y Permanentes

Frecuencia de cepillado

Técnica de cepillado

Tratamiento médico

Tratamiento preventivo con sellador de fosetas y fisuras

Enjuagues con flúor

Dieta (pollo o carne, pescado, fruta, verdura, leche, pan)

Cantidad de ingesta de dulces diarios

Cantidad de ingesta de refrescos diarios

9.2 TRABAJO DE LABORATORIO

Utilizando el material y equipo de laboratorio (Anexo II) se realizó la inoculación de las muestras de saliva recolectadas con el procedimiento señalado en el Anexo IV. ^(16, 17, 19)

Dichas muestras se inocularon en el medio de cultivo Agar Rogosa S.L. (Anexo III), este es un medio específico para el crecimiento de especies del género de *Lactobacillus*. ⁽¹⁶⁾

Una vez que las colonias aparecieron sobre el medio de cultivo, aproximadamente 48 horas después de su inoculación, se hizo el conteo de las colonias a las 72 horas, para así determinar el CFU (Unidad Formadora de Colonias) para *Lactobacillus* (Anexo IV). ⁽¹⁷⁾

Posteriormente se obtuvieron colonias viables para la aplicación de pruebas bioquímicas a cada muestra, para determinar la especie de *Lactobacillus* presente en cada una de ellas. ⁽¹²⁾

Dichas pruebas bioquímicas (Anexo IV) consisten en la preparación de una solución estéril que contiene un carbohidrato, el cual puede ser o no fermentado y un indicador (rojo de fenol). ⁽¹²⁾

Después de obtener los resultados de las pruebas bioquímicas, se compararon con tablas ya elaboradas, las cuales contienen las características de cada una de las especies de *Lactobacillus* (Anexo VI). ^(7, 20)

De esta forma se identificaron las especies de *Lactobacillus* presentes en cada población.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Se obtendrán las frecuencias de las variables cualitativas (sociodemografía) así como las medias y desviación estándar de las variables cuantitativas. (CPO, CFU, Pruebas bioquímicas.) y se realizará el análisis de varianza y t-de student.

RESULTADOS.

La caries es una enfermedad de diversa etiología y que como hemos mencionado con antelación los microorganismos participan de forma importante en el establecimiento y desarrollo de las lesiones y en la segunda etapa consistente en el desarrollo de la lesión, los lactobacilos, son los microorganismos responsables del progreso de la lesión.

En la actualidad algunos países de los denominados desarrollados entre los que se encuentra Suecia han logrado el control y casi la eliminación de este padecimiento.

En los países subdesarrollados el padecimiento es elevado y se incrementa aún más en los países en vías de desarrollo tal es el caso de México en donde en el último reporte de salud bucal se especifica como está la población. Una forma de abordar la enfermedad es mediante el estudio de los índices cariado-perdido-obturado (CPO) los resultados son reveladores y nos indican que la media de índice CPO es de 5.1 y que para el 2000 se espera que este valor disminuya.

En la práctica odontológica sin duda alguna es de suma importancia la prevención de las enfermedades, los países desarrollados han logrado el control mediante técnicas como los selladores de fosetas y fisuras y la aplicación tópica de flúor. En México está más ampliamente difundido el uso de fluoruros por lo que en el presente trabajo decidimos abordar y determinar si el tratamiento con flúor altera la ecología bacteriana en particular la de los *Lactobacillus*.

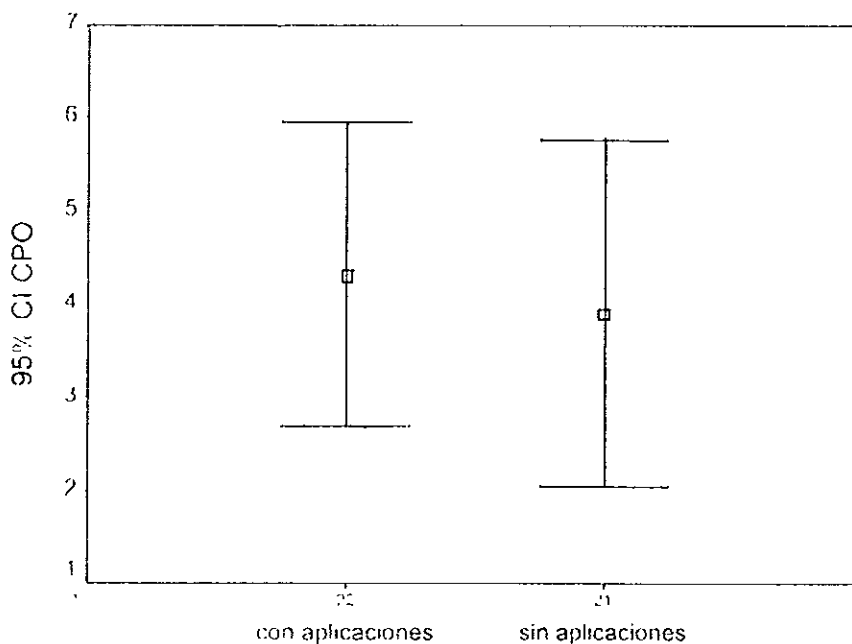
En el modelo de estudio se tomaron dos poblaciones la primera sin tratamiento de flúor y la segunda con tratamiento de flúor, nuestros resultados señalan que la media de los índices CPO fue de 4.32 ± 0.79 y 3.90 ± 0.89 respectivamente encontramos así mismo que no se presentaron diferencias significativas entre ambas poblaciones (0.729) (Tabla I y II y Graf. 1)

TABLA I Índices CPO de la población sujeta a estudio

FLÚOR	N	MEDIA	DESVIACIÓN ESTANDAR	MEDIA DEL ERROR ESTANDAR	95% DEL INTERVALO DE CONFIANZA	
					LÍMITE BAJO	LÍMITE ALTO
SIN	22	4.32	3.70	0.79	2.68	5.96
CON	21	3.90	4.07	0.89	2.05	5.76
TOTAL	43	4.12	3.84	0.59	2.93	5.30

TABLA II Análisis de significancia entre los grupos de estudio.

	Suma de cuadrados	Df	Media de cuadrados	F	Significancia
Entre grupos	1.836	1	1.836	0.122	0.729
Dentro de grupos	618.582	41	15.087		
Total	620.419	42			



Gráfica 1 Intervalo de confianza del índice CPO en las poblaciones sujetas a estudio

En otra serie de experimentos encontramos que no existen diferencias significativas entre los dientes temporales con caries y permanentes con caries, perdidos y obturados. (Tabla III y Tabla IV)

En los estudios realizados por género encontramos que los niños presentan índices CPO superiores (4.27 ± 0.92) en comparación a las niñas (3.95 ± 0.73) en cuanto a los dientes perdidos la media en niños fue superior (0.59 ± 0.18) en comparación a las niñas (0.24 ± 0.12), en las piezas obturadas encontramos que los niños reciben mayor atención dental que las niñas, ya que los valores fueron 0.36 ± 0.2 y $9.5E-02 \pm 6.56E-02$ respectivamente. En lo referente a las caries de piezas permanentes la media es mayor en las niñas siendo de 1.14 ± 0.30 y en los niños es de 0.59 ± 0.23 es importante mencionar que las diferencia encontradas en estos parámetros no son significativas.

TABLA III Media de los índices por caries, perdido y obturado.

		N	MEDIA	DESV. STD.	ERROR STD.	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA	
						LÍMITE INFER.	LÍMITE SUPER.
CARIES DE SUPERFICIE	SIN	22	1.27	1.70	0.36	0.52	2.02
	CON	21	1.00	1.22	0.27	0.44	1.56
	TOTAL	43	1.14	1.47	0.22	0.69	1.59
CARIES DE TEMPORALES	SIN	22	2.23	2.20	0.47	1.25	3.20
	CON	21	3.00	3.46	0.76	1.42	4.58
	TOTAL	43	2.60	2.88	0.44	1.72	3.49
CARIES DE PERMANENTES	SIN	22	1.00	1.31	0.28	0.42	1.58
	CON	21	0.71	1.23	0.27	0.15	1.27
	TOTAL	43	0.86	1.26	0.19	0.47	1.25
CARIES DE DESTRUCCIÓN	SIN	22	1.91	2.09	0.45	0.98	2.84
	CON	21	2.76	3.27	0.71	1.27	4.25
	TOTAL	43	2.33	2.73	0.42	1.48	3.17
PERDIDO	SIN	22	0.68	0.84	0.18	0.31	1.05
	CON	21	0.14	0.48	0.10	-7.48E-2	0.36
	TOTAL	43	0.42	0.73	0.11	0.19	0.64
OBTURADO	SIN	22	0.42	0.96	0.20	-1.62E-2	0.83
	CON	21	4.76E-2	0.22	4.76E-2	-5.17E-2	0.15
	TOTAL	43	0.23	0.72	0.11	1.15E-2	0.45

TABLA IV Análisis de significancia entre las variables cariado, perdido y obturado.

CARIES DE SUPERFICIE	DE	SIN	0.7999	1	0.799	0.363	0.550
		CON	90.364	41	2.204		
		TOTAL	91.163	42			
CARIES TEMPORALES	DE	SIN	6.415	1	6.415	0.769	0.386
		CON	341.864	41	8.338		
		TOTAL	348.279	42			
CARIES PERMANENTES	DE	SIN	0.877	1	0.877	0.543	0.466
		CON	66.286	41	1.617		
		TOTAL	67.163	42			
CARIES DESTRUCCIÓN	DE	SIN	7.814	1	7.814	1.048	0.312
		CON	305.628	41	7.454		
		TOTAL	348.279	42			
PERDIDO		SIN	3.121	1	3.121	6.615	0.014
		CON	19.344	41	0.472		
		TOTAL	22.465	42			
OBTURADO		SIN	1.404	1	1.404	2.839	0.100
		CON	20.271	41	0.494		
		TOTAL	21.674	42			

En cuanto a las especies de *Lactobacillus* presentes en la placa dentobacteriana de los niños con aplicaciones tópicas de flúor presentan diferencias encontramos que en los niños sin aplicaciones tópicas de flúor las especies presentes son *L.acidophilus* predominantemente y en niños con aplicaciones tópicas predomina *L. plantarum* y *pseudoplantarum*. (Tabla V)

TABLA V Porcentaje de las especies de *Lactobacillus* más abundantes.

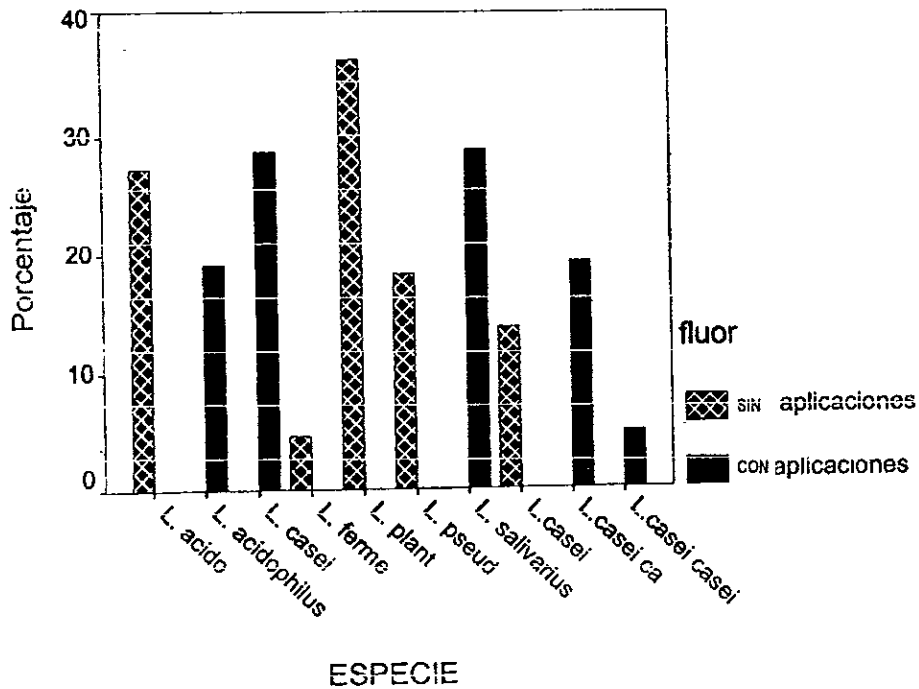
SIN APLICACIÓN	<i>L. acidophilus</i>	4	19.0
	Lcasei	6	28.6
	<i>L.salivarius</i>	6	28.6
	<i>L. casei rhamnosus</i>	4	19.0
	<i>L. casei casei</i>	1	4.8
	Total	21	100
CON APLICACIÓN	<i>L. acidophilus</i>	6	27.3
	<i>L. fermentum</i>	1	4.5
	<i>L. plantarum</i>	8	36.4
	<i>L. pseudoplantarum</i>	4	18.2
	<i>L. casei</i>	3	13.6
	Total	22	100

En cuanto a las unidades formadoras de colonias encontramos que las especie de *L. acidophilus*, *L. casei* y *salivarius* fueron las más abundantes en los niños que no recibieron aplicaciones tópicas de flúor. En los niños tratados con aplicaciones tópicas las especies más abundantes corresponden a *L. plantarum* y *pseudopplantarum* (Tabla VI)

TABLA VI Unidades formadoras de las especies identificadas en las poblaciones

Flúor	Especie	N	MEDIA
Sin aplicación	<i>L. acidophilus</i>	4	46466.67
	<i>L. casei</i>	6	68133.33
	<i>L. salivarius</i>	6	69400.00
	<i>L. casei rhamnosus</i>	4	69400.00
	<i>L. casei casei</i>	1	7200.00
	TOTAL	21	44342.86
Con aplicación	<i>L. acidophilus</i>	6	38933.33
	<i>L. fermentatum</i>	1	8000.00
	<i>L. plantarum</i>	8	14500.00
	<i>L. pseudopplantarum</i>	4	26200.00
	<i>L. casei</i>	3	30400.00
	TOTAL	22	25163.64
TOTAL	<i>L. acidophilus</i>	10	59533.33
	<i>L. casei</i>	6	25866.67
	<i>L. fermentum</i>	1	8000.00
	<i>L. plantarum</i>	8	14500.00
	<i>L. pseudopplantarum</i>	4	26200.00
	<i>L. salivarius.</i>	6	68133.33
	<i>L. casei</i>	3	30400.00
	<i>L. casei casei</i>	4	69400.00
	<i>L. casei rhamnosus</i>	1	7200.00
TOTAL	43	34530.23	

Encontramos de la misma forma una diferencia en la ecología de las especies de *Lactobacillus* en las poblaciones sujetas a estudio como se muestra en la gráfica 2.



Gráfica 2 PORCENTAJE DE ESPECIES DE LACTOBACILLUS EN LA POBLACIÓN

11.DISCUSIÓN.

El trabajo anterior tiene el objetivo de estudiar las diferentes especies de *Lactobacillus* presentes en dos poblaciones de estudio la primera comprende a niños que no han recibido aplicaciones tópicas de flúor y niños que recibieron al menos dos tratamiento de aplicaciones de flúor al año. La población estudiada se encontraba entre las edades de 6 a 12 años y los índices de CPO variaron de 1.8 a 6.5. Es importante mencionar que las poblaciones de estudio no presentaron diferencias significativas en cuanto a los índices CPO lo que nos permitió partir de que el tratamiento con flúor no altera los índices CPO asimismo encontramos que las niñas presentan un mayor número de dientes permanentes cariados posiblemente porque es bien sabido desde hace algún tiempo que ellas mudan de dientes antes que los niños, lo que provoca que su segunda dentición lleven mayor tiempo de exposición.

En otra serie de resultados encontramos que en la población de estudio los niños presentan una deficiente atención dental, la media del índice CPO de la población que ha recibido tratamiento de flúor presentó un índice de 3.9 y las piezas obturadas fueron de 0.047 y lo relativo a los niños que no han recibido aplicaciones la media del índice correspondió a 4.32 y los dientes obturados de 0.41 en el análisis entre los grupos encontramos que no se presentaron diferencias significativas (0.1)

Los índices CPO no presentaron diferencias significativas entre género ni entre los índices cariado, perdido y obturado.

En lo relativo a las especies de *Lactobacillus* presentes con y sin tratamiento de flúor encontramos que las especies predominantes en los niños sin tratamiento con flúor corresponden a los *Lactobacillus* más importantes en el establecimiento de la lesión como *L. acidophilus*, *L. salivarius* y *L. casei*. Y a diferencia con los niños con tratamiento de aplicaciones tópicas de flúor, las especies de *Lactobacillus* fueron *L. acidophilus* y *L. pseudoplantarum*.

En conclusión nuestros datos sugieren que en las poblaciones de estudio se encuentran diferencias en la colonización de las especies de *Lactobacillus* presentes en la placa dentobacteriana.

12. CONCLUSIONES

Dentro del camino recorrido de nuestra investigación, hasta este momento; los resultados que hemos obtenido nos llevan a concluir lo siguiente:

El CFU para Lactobacilos fue variable y en ocasiones era proporcional al CFU para Estreptococos.

El CFU de Lactobacilos se encuentra elevado solo en muestras de niños con una marcada actividad cariogénica lo que nos lleva a concluir que los Estreptococos se encuentran presentes en la microbiota bucal y durante los primeras etapas de la caries, mientras que los Lactobacilos están presentes en estadios secundarios de la caries.

Comprobamos que la higiene bucal juega un papel muy importante en el desarrollo de la caries pues hubo niños que comían hasta 8 dulces y 2 refrescos diarios, pero se cepillaban los dientes 3 veces al día presentando un CPO bajo y un CFU para Lactobacilos .

La técnica de cepillado influye en el desarrollo de la caries, pues la mayoría de los niños con CPO bajo usan la técnica de Stillman y algunos niños con CPO alto utilizan la técnica de violín.

Las especies de lactobacillus tuvieron una ligera variación entre ambas poblaciones, por ejemplo en la población de niños sin aplicaciones de flúor predominaron las especies de *L. acidophilus* y en la población que recibió tratamiento con flúor predominaron las especies de *L. plantarum* y *pseudoplatarum*.

13. ANEXOS

13.1 ANEXO I. MATERIAL PARA EL TRABAJO DE CAMPO

Material para el trabajo de campo:

Tubos de ensaye estériles

Caja de unisel

Hielo

Conos de papel despuntados (embudos)

Cera roja o rosa en cuadros de 1 cm x 1 cm (estimulante de saliva)

Guantes

Abatelenguas

Cinta maskin

Bolígrafo

Cuestionarios (Historia Clínica)

HISTORIA CLINICA

1. Edad
2. Sexo
3. Escolaridad
4. Frecuencia de cepillado
5. Técnica de cepillado
6. Enfermedad y tratamiento médico
7. Tratamiento preventivo (sellador de fosetas y fisuras)
8. Tratamiento con flúor
9. Dieta
10. Ingesta de Carbohidratos

13.2 ANEXO II. MATERIAL Y EQUIPO PARA EL TRABAJO DE LABORATORIO.

Materiales para trabajo en el laboratorio:

Cajas de petri con medios de cultivo: Rogosa SL.
Tubos de ensaye estériles
Micropipetas de 1000microlitros y 100 microlitros
Asas de vidrio
Velas
Cinta testigo
Cinta maskin
Plumón indeleble
Gradillas
Taponos estériles
Algodón
Tijeras
Matraces
Tubos ependorf
Pipetas con prepipetas
Asas de vidrio
Asas de metal

Equipo:

Balanza
Autoclave
Parrilla de agitación
Mechero
Jarra de anaerobiosis
Estufa para cultivo
REVCO
Refrigerador

13.3 ANEXO III. MEDIO DE CULTIVO “ROGOSA S.L.”

MEDIO DE CULTIVO ROGOSA

Sustancias utilizadas:

- Bacto triptosa.	10.0g.
- Extracto de levadura.	5.0 g.
- Bacto dextrosa.	10.0 g.
- Bacto arabinosa.	5.0 g.
- Bacto sacarosa.	5.0 g.
- Acetato de sodio.	15.0 g.
- Acetato de amonio.	2.0 g.
- Fosfato de mono potasio.	6.0 g.
- Sulfato de magnesio.	0.57 g.
- Sulfato de manganeso.	0.12 g.
- Sulfato ferroso.	0.03 g.
- Monolato de sorbitan.	1.0 g.
- Bacto agar.	15.0 g.
- Ácido acético.	1.32 mg

Este medio se elabora de acuerdo a las modificaciones a la fórmula de rogosa:

-Agua bidestilada.	1000.0 ml.
-Medio de Rogosa.	75.0 gr.
-Ácido glacial acético.	1.32 ml.

1. Se rehidrata suspendiendo en el agua bidestilada el medio de Rogosa durante 10 a 15 minutos, se calienta hasta que se disuelva.
2. Se agrega el ácido acético glacial se mezcla completamente.
3. Se calienta de 90°C a 100°C durante 3 minutos. No se autoclavea.
4. Se deja enfriar casi hasta temperatura ambiente (sin que gelifique) para vaciarse a las cajas de petri. (aprox. 20 ml por caja).
5. Una vez que gelifica en las cajas se sella con papel parafina y se almacena entre 2°C y 8°C. ⁽¹⁶⁾

13.4 ANEXO IV. CULTIVO DE LAS MUESTRAS

SEMBRADO

- Se crea una área aséptica, la cual se logra con la ayuda de 3 mecheros, obteniendo así una área triangular de trabajo. Se vigila que no haya corrientes de aire.
- Se hace una dilución de saliva de 2:10 colocando 800 ml de solución de Ringer y 200 ml de saliva. Se emplea para ello tubos de ensaye y puntas para micropipeta estériles.
- Se toma 25 ml de esta dilución y se coloca en el medio, con ayuda de una micropipeta.
- Se adiciona la dilución en el medio de cultivo con ayuda de un asa de vidrio. La cual se esteriliza para cada siembra.
- Se etiquetan las cajas con la fecha del sembrado, se llevan a la jarra de anaerobiosis y se colocan en una posición invertida. Para crear el ambiente anaerobio se emplean velas, gaspack o limón con carbonato.
- Se incuban, las cajas, en la estufa a una temperatura de 37°C por 72 horas.
- Se hizo el conteo de colonias a las 72 horas.
El operador deberá tener las manos limpias y con guantes, debe portar cubre boca y lentes, y no se debe hablar durante el sembrado.

Fue necesario el realizar una resiembra de Lactobacilos, pues se requería que las colonias estuvieran viables con un metabolismo óptimo, el cual se obtenía a las 72 hrs. Esta siembra se realizó por estría separada en medio de Rogosa SL.

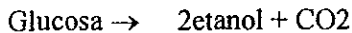
13 5 ANEXO V . PRUEBAS BIOQUÍMICAS

PRUEBAS BIOQUIMICAS

A) Fermentación de los hidratos de carbono

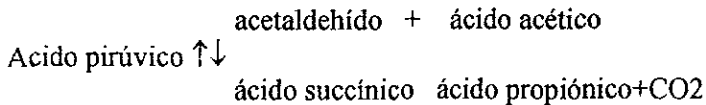
El objetivo es determinar la capacidad de un organismos de fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico incorporado a un medio básico, produciendo ácido o ácido con gas visible. Las formas de fermentación son generalmente características para grupos o especies bacterianas específicas.

En la llamada fermentación alcohólica las bacterias degradan la glucosa en ácido pirúvico siguiendo el ciclo de la glucólisis o de Embden Meyerhof.



En la fermentación del ácido láctico las bacterias pueden ser homolácticas y producir ácido láctico con vestigios de otros productos finales y las fermentadoras heterolácticas producen ácido láctico, acético y ácido fórmico, alcohol etílico y bióxido de carbono, y en ocasiones glicerol.

La fermentación del ácido propiónico se lleva a cabo por microorganismos anaeróbicos. El producto final del ácido pirúvico es el ácido propiónico y CO₂ a través del ciclo del ácido succínico aún cuando puede producirse ácido acético.⁽¹²⁾



B) Prueba de la Esculina en medio con bilis

El objetivo es determinar la facultad de un organismo de hidrolizar el glucósido esculina en eculentina y glucosa en presencia de bilis. Ayuda a la diferenciación de las especies de lactobacilos.

Método para la elaboración de Pruebas bioquímicas

Pruebas de fermentación de hidratos de carbono

(Lactosa, Manitol, Ramnosa, Ribosa, Sorbitol, Manosa, Bilis Esculina)

CALDO ROJO DE FENOL

Sustancias utilizadas:

-Peptona	10g
-Estracto de carne	1g
-Cloruro de sodio	5g
-Rojo de fenol	0.018g
-Agua destilada	1 l

1. Preparación de caldo básico rojo de fenol pH 7.4
2. Indicador de pH rojo de fenol
 - ácido: color amarillo pH6.8
 - alcalino: rojo rosado pH 8.4
 - medio no inoculado: anaranjado rojizo pH 7.4
3. Productos comerciales Difco y BBL
4. Se prepara el rojo de fenol rehidratando en agua bidestilada los productos, se calienta hasta la disolución de los ingredientes.
5. Se esteriliza por medio de autoclave
6. Se enfría en baño de agua
7. Preparación de los hidratos de carbono
 - Concentración de azúcares en el caldo básico:
agregar directamente el azúcar a la base al 1%, por ejemplo, 10g de azúcar por litro de base para un concentración final del 1%.
8. Se esteriliza el medio básico de hidratos de carbono en autoclave.
9. Inoculación.
 - Se pasa el asa previamente esterilizada sobre el crecimiento del cultivo
 - Ser inclina el tubo para que se incorpore el inóculo
 - Se agita suavemente cada tubo
10. Incubación
 - Se incuba a 35°C de 18 a 24 horas
11. Interpretación
 - Postivo: cuando es ácido (pH 6.8), color amarillo, producción de gas variable
 - + para gas:
 1. aerogénico: se encuentra dióxido de carbono e hidrógeno
 2. Se observan burbujas de gas en el tubo
 - para gas:
 1. anaerogénica
 - 2.No se observan burbujas de gas en el medio

ESCULINA EN MEDIO CON BILIS

Prueba de la esculina en medio con bilis

Sustancias utilizadas:

-Peptona	10g
-Estracto de carne	1g
-Cloruro de sodio	5g
-Rojo de fenol	.018g
-Agua destilada	1 l

1. Preparación del medio con los reactivos señalados.
2. Método de preparación
 - Se mide exactamente las cantidades
 - Se rehidrata con agua destilada
 - Se calienta la solución
 - Se coloca aprox. 5ml en un tubo con tapa de rosca
3. Se esteriliza en autoclave
4. Se deja enfriar manteniendo el tubo ligeramente inclinado
5. Inoculación: Se siembran las colonias con un asa, en el pico de flauta
6. Incubación a 35°C por 48 horas.
7. Interpretación

Positivo: Presencia de un color negro a castaño en el pico de flauta, la mitad o más de la superficie del medio aparece negra

Negativa: No se produce el ennegrecimiento del medio. ⁽¹²⁾

13.6 ANEXO VI CARACTERISTICAS GENERALES DEL
GENERO *Lactobacillus*.

LACTOBACILO

- Anaerobios facultativos estrictos
- Gram positivos
- Producto de la fermentación de carbohidratos: ácidos (ej. propiónico, láctico y acético), alcohol y bióxido de carbono
- Forma de bacilos (solos o en cadena)
- Catalasa negativos, todas las especies
- Inhibidores de su crecimiento: penicilina, ampicilina, clindamicina y cefalotina
- Son nitrato negativos (excepto: *Lactobacilos plantarum*)
- Son indol negativo. ⁽¹²⁾

**FERMENTACIÓN DE CARBOHIDRATOS DE ALGUNAS
ESPECIES HETEROFERMENTADORAS Y
HOMOFERMETADORAS DEL GÉNERO DE *LACTOBACILLUS*.**

ESPECIE	Cel	ESC	GAL	GLU	LAC	MAL	MAN	MANO	RAMN	RIBOS	SORB
<i>L. acidophilus</i>	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
<i>L. salivarius</i>	-	D	+	+	+	+	+	-	D	-	-
<i>L. casei</i> Casei	+	+	+	+	D	+	+	+	-	+	+
<i>L. casei</i> Pseudopantarum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>L. casei</i> rhamnosus	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>L. plantarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
<i>L. fermentum</i>	D	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-

ESTA TERCERA NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

13. BIBLIOGRAFIA

1. Beighton D, et al. "Streptococcus mutans and other streptococci from the oral cavity. Isolation and identification of microorganisms of medical and veterinayr importance." *Soc Appl Bacteriol Tech Ser* 1985; 21:177-190.
2. Beighton D, et al. "The isolation and characteristation of Streptococcus mutans serotype h from dental plaque of monkeys (*Macaca fascicularis*)." *Int J Syst Bacteriol* 1984; 34: 332.
3. Bratthall, D. Köhler B. "Streptococcus mutans Serotypes: Some Aspects of Their Identification, Distribution, Antigenic Shifts, and Relationship to Caries."
4. Carlsson A. Et al. "2-Year" clinical performance of a fluoride- containing fissure sealant in young schoolchildren at caries risk." *American Journal of Dentistry* 1997; 10(3): 115-119.
5. Coykendall, Al. "Proporsal to elevate the subspecies of Streptococcus mutans to species statue, based on their molecular composition" : *Internacional J System Bacteriology* 1977; Vol 27: 26-30.
6. Chestnutt, I.G. et al. "Evalutation of the in vitro Cariogenic Potential of Streptococcus mutans Strains Isolated from 12-years-old Children with Differing Caries Experiencie." *Caries Res* 1995; 29:455-460.
7. Ellen. Jo Baron and Sydney Finegold. 1990 Diagnostic Microbiology. Octava edición. St. Louis Missouri. Edit. Mosby.

8. Emilson C. "Prevalence of Streptococcus mutans with different colonial morphologies in human plaque and saliva". *Scand J Dent Res* 1983; 91:26-32.
9. Eugene Lazzari 1968 *Bioquímica Dental*. Edit. Interamericana
10. Gold OG, et al. "A selective medium for Streptococcus mutans". *Arch Oral Biol* 1973;18:1357-64.
11. Gordon N. Kiforouk 1985. *Understanding Dental Caries*. Edit. Karger.
12. Jean F. Mac. Fadin. 1990. Pruebas bioquímicas para identificación de bacterias de importancia clínica. México. Edit. Médica Panamericana.
13. Jordan H. "Cariogenic Flora: Establishment, Localization, and Transmission." *J Dent Res Special Issue C* 1976; 55 C-10a C-14.
14. Klock B, Krasse B. "Microbial an salivary conditions in 9 to 12-year-old children." *Scand J Dent Res* 1977; 85:56-63.
15. Koneman/ Allen/ Dowell. 1992. Diagnóstico Microbiológico. Tercera edición. Buenos Aires. Edit. Médica Panamericana.
16. Rogosa M, et al. "A selective medium for the isolation and enumeration of oral lactobacilli." *J Dent Res* 1951; 30: 682-9.
17. Steckslen-Blicks "C. Salivary counts of lactobacilli an Streptococcus mutans in caries prediction" *.Scand J Dent Res* 1985; 93: 204-12.
18. W. Ketterl. 1994, *Odontología Conservadora*, México Masson – Salvat Odontologica

19. Westergren G, Krasse "B. Evaluation of a Micromethod for Determination of Streptococcus mutans and Lactobacillus Infection. " *J of Clinical Microbiology*. 1977; 7:82-83

20. Wolfgang K. Joklik, 1995 Zinsser Microbiología. 20ª Edición. Buenos Aires. Edit. Médica Panamericana.