



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ADHERENCIA DE *Streptococcus mutans* Y SU  
IMPORTANCIA EN LA GÉNESIS DE LA CARIES DENTAL

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

EDGAR MACUIL ROBLES

TUTORA: MTRA. ALMA LAURA BAIRES VÁRGUEZ

MÉXICO, D.F.

2007



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.



## *AGRADECIMIENTOS*

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos, a todas aquellas personas que han contribuido de una u otra manera a la realización de esta tesina:

A la Mtra. Alma Laura Baires Vázquez, tutora de esta tesina, por brindarme su valioso tiempo, comprensión y sobre todo su amistad.

Deseo agradecer infinitamente a mis padres Ignacio Macuil y María Luisa Robles, porque siempre cuidaron de mí, además por inculcarme sentimientos y principalmente por creer en mí. Dios me ha dado unos excelentes padres y una vida muy bonita a lado de ustedes. Gracias por el apoyo y ejemplo que en cada momento de mi vida siempre me han brindado.

A mis hermanos, porque siempre me han motivado a seguir adelante, ya que cada uno de ustedes ha aportado un granito de arena, han sido un gran apoyo durante este camino; además me alientan a emprender nuevos retos, sabiendo que aún, hay más metas por alcanzar.

A mi Universidad y a mi Facultad, por permitirme adquirir los conocimientos necesarios para ejercer mi profesión. Además, por ofrecerme una educación de primer nivel. Gracias a los profesores que contribuyeron en mi educación, por sus consejos, su paciencia y sugerencias que me ayudó culminar mi carrera profesional.

A todos mis amigos por ofrecerme con sinceridad su amistad y brindarme su apoyo incondicional, ya que han formado parte de mi desarrollo profesional y personal.

A todos los olvidados en estas páginas que saben quiénes son y la importancia que tienen para mí, ellos también merecen un agradecimiento muy especial.

## INTRODUCCIÓN

<b>1. CLASIFICACIÓN GENERAL DEL GÉNERO <i>Streptococcus</i></b> -----	<b>5</b>
1.1 MORFOLOGÍA-----	5
1.2 ESTRUCTURA-----	6
1.3 CLASIFICACIÓN DE LANCEFIELD-----	8
1.4 CLASIFICACIÓN DE BROWN-----	9
1.5 ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO VIRIDANS-----	12
1.6 ESPECIES DEL GRUPO VIRIDANS-----	15
1.6.1 Grupo <i>Streptococcus mutans</i> -----	15
1.6.1.1 <i>Streptococcus mutans</i> -----	16
1.6.1.2 <i>Streptococcus sobrinus</i> -----	16
1.6.1.3 <i>Streptococcus cricetus</i> -----	17
1.6.1.4 <i>Streptococcus rattus</i> -----	17
1.7 <i>Streptococcus oralis</i> -----	17
1.7.1 <i>Streptococcus sanguis</i> -----	17
1.7.2 <i>Streptococcus parasanguis</i> -----	18
1.7.3 <i>Streptococcus gordonii</i> -----	18
1.7.4 <i>Streptococcus crista</i> -----	18
1.7.5 <i>Streptococcus oralis</i> -----	18
1.7.6 <i>Streptococcus mitis</i> -----	18
1.8 <i>Streptococcus salivarius</i> -----	19
1.9 <i>Streptococcus milleri</i> -----	19
<b>2. GENERALIDADES DE <i>Streptococcus mutans</i></b> -----	<b>20</b>
2.1 BIOPELÍCULA-----	24
<b>3. MECANISMOS DE ADHERENCIA DE <i>Streptococcus mutans</i></b> -----	<b>26</b>
3.1 ADHERENCIA POR ÁCIDOS LIPOTEICOICOS-----	27
3.2 ADHERENCIA POR POLISACÁRIDOS EXTRACELULARES-----	28
<b>4. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ADHERENCIA</b> -----	<b>31</b>
<b>4.1 PROTEÍNAS SALIVALES</b> -----	<b>31</b>
4.2 MUCINAS-----	32
4.3 PROTEÍNAS RICAS EN PROLINA Y GLUCOPROTEÍNAS-----	33
4.4 HISTATINAS Y ESTATERINAS-----	34
4.5 ALFA AMILASA-----	34
<b>5. ADHERENCIA DE ESTREPTOCOCOS VIRIDANS AL ENDOTELIO CARDIACO</b> -----	<b>35</b>
5.1 ENDOCARDITIS BACTERIANA SUBAGUDA-----	35
<b>CONCLUSIONES</b> -----	<b>37</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> -----	<b>38</b>



## INTRODUCCIÓN

Según la clasificación internacional de enfermedades aplicada a la Odontología CIE-OE, de la Organización Mundial de la Salud, en su tercera edición (1996), la Caries se clasifica dentro de las enfermedades del sistema digestivo, capítulo 11, al que pertenecen las enfermedades que afectan a la cavidad oral, glándulas salivales y de los maxilares, código KO2.

La caries se considera una enfermedad infecciosa de causas múltiples, entre las cuales están las de tipo biológicas, sociales, económicas, culturales y ambientales. Su formación y desarrollo está condicionado por el modo y estilo de vida del individuo. Siendo su prevalencia diferente con respecto a los grupos sociales, países y continentes. Afecta tanto a la corona como a la raíz del diente y su no-atención puede ocasionar la pérdida del órgano dentario y además constituye un foco de infección para el organismo.

La caries se define como un proceso o enfermedad dinámica crónica que ocurre en la estructura dentaria en contacto con los depósitos microbianos (biopelícula, placa dentobacteriana o biofilm) y debido al desequilibrio entre la sustancia dental y el fluido de la placa circundante, dando como resultado una pérdida de mineral de la superficie dental, cuyo signo es la destrucción localizada de tejidos duros.

En los estadios iniciales de la caries, las bacterias involucradas median en la desmineralización que ocurre en esmalte y en la dentina. Esto es seguido por el rompimiento de fibras colágenas dentinales. Este rompimiento del colágeno está mediado por enzimas bacterianas y/o por la colagenasa producida por el hospedero.

Uitto VJ y Raeste Am (1978), Tjäderhance L et al. (1996), Dung S.Z et al. (1995), reportaron un aumento de la degradación de colágeno de la dentina después de la desmineralización con ácido láctico. Sin embargo, el proceso inicial de desmineralización del esmalte es generalmente seguido por la remineralización, cuando esto no sucede, la capa superficial del esmalte pierde su continuidad



progresando la lesión hacia la dentina y posteriormente a tejido pulpar, lo que conlleva inflamación y necrosis.

El requisito fundamental en la génesis de la caries dental son los microorganismos. Aunque *S. mutans* ha sido reconocido como el grupo principal de microorganismos involucrados en la caries dental; existe controversia al respecto, ya que por otro lado, se han involucrado a más microorganismos en este proceso.

En la actualidad, existen dos teorías sobre la génesis de la caries:

- **Hipótesis específica:** Responsabiliza únicamente a *S. mutans* como agente etiológico de la caries dental.
- **Hipótesis inespecífica:** Responsabiliza no sólo a *S. mutans* sino a una mezcla heterogénea no específica de bacterias como agentes etiológicos en la génesis de la caries (Lactobacilos, Estreptococos y Actinomyces).

El presente trabajo tiene como principal objetivo exponer los mecanismos de adherencia empleados por *S. mutans* durante la génesis de la caries. En este sentido, es importante señalar que la caries, al igual que cualquier enfermedad infecciosa, cumple con los pasos del proceso infeccioso que son:

- a) Vía de entrada
- b) Adherencia
- c) Colonización
- d) Invasión

Los mecanismos de adherencia más importantes en *S. mutans* son las glucoproteínas, proteínas ricas en prolina, las mucinas, histidinas, estaterinas y las glucosiltransferasas, entre otros.

# 1. CLASIFICACIÓN GENERAL DEL GÉNERO *Streptococcus*

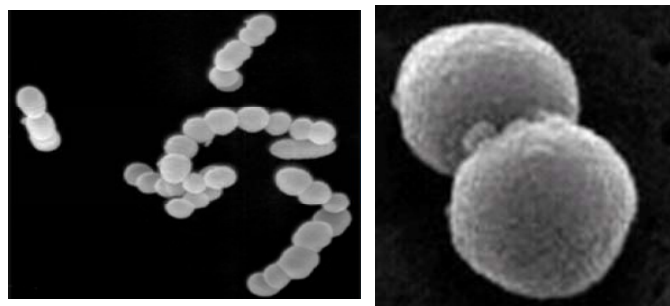
## 1.1 MORFOLOGÍA

El género *Streptococcus* pertenece a la familia *Streptococcaceae* y entre sus principales especies, sobresalen las siguientes: *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. equisimitis*, *S. canis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. pneumoniae*, *S. bovis* y *S. faecalis*<sup>1</sup>.

Es importante señalar que *S. Boris* y *S. faecalis*, se han reclasificado recientemente en otro género: *Enterococcus*; sin embargo ambas especies comparten ciertas características, que, para su estudio continúan considerándose miembros del género *Streptococcus*.

Son cocos gram positivos que se asocian en parejas y cadenas cortas o largas, no esporulados e inmóviles (Fig. 1). Son anaerobios facultativos, carecen de catalasa (negativos a la catalasa) y su tolerancia al oxígeno se debe a peroxidasas flavínicas y suedocatalasas; además constituyen el grupo más numeroso en la cavidad oral<sup>2</sup>.

Todos los estreptococos fermentan carbohidratos, que son los únicos nutrientes a partir de los cuales pueden obtener suficiente energía para soportar el crecimiento y la división celular, dando lugar principalmente a la producción de ácido láctico<sup>3</sup>.



**FIG. 1 Agrupación de los estreptococos en cadenas cortas o largas**  
R. Callejo-Servicio de Bacteriología Especial-INEI

La longitud de estas formaciones puede variar desde un solo par hasta cadenas continuas, según la especie y las condiciones de crecimiento. Algunos miembros de

<sup>1</sup>Garza Velasco Raúl. "Bacterias Patógenas" parte III. Cuadernos de la Facultad de Química, Departamento de Biología. México, Abril de 1999. Pág.33

<sup>2</sup> Liébana Ureña J. Microbiología oral. Segunda edición, México, Ed. Panamericana, 2002. Pág.325

<sup>3</sup> Martínez Garriga Blanca, "Contribución al estudio de los mecanismos moleculares de la resistencia a Ciprofloxacina en *Streptococcus pneumoniae*"  
Martínez Garriga Blanca, Tutor: M. Viñas. Tesis de doctorado, Universidad de Barcelona, Mayo, 2005. Pág. 3



este grupo forman cápsulas compuestas por complejos polisacáridos o ácido hialurónico. Presentan un metabolismo fermentativo y producen esencialmente ácido láctico (homofermentativos); su temperatura óptima de desarrollo es de  $36 \pm 1$  °C<sup>4,5</sup>.

Crecen en medios enriquecidos bajo condiciones anaerobias (facultativos). Se recomienda el medio de cultivo agar-sangre ya que satisface las necesidades de crecimiento y sirve como un indicador de hemólisis. Las colonias formadas son pequeñas y su tamaño varía entre 2 mm de diámetro. Estas colonias pueden estar rodeadas por una zona en donde se han hemolizado eritrocitos en el agar<sup>6</sup>.

Los estreptococos son metabólicamente activos y atacan a diversos carbohidratos (fermentan glucosa y sobre todo producen ácido láctico), proteínas y aminoácidos<sup>7</sup>.

La mayor parte de estreptococos de la cavidad bucal se consideran alfa-hemolíticos: *S. salivarius* y *Streptococcus* de los grupos *mutans*, *milleri*, *mitis* y *sanguis*. *Streptococcus faecalis*, reclasificado como *Enterococcus faecalis*, es considerado no hemolítico. Los estreptococos beta hemolíticos (*Streptococcus pyogenes*), no se consideran parte de la microbiota bucal normal<sup>8</sup>.

## 1.2 ESTRUCTURA

Los estreptococos y enterococos presentan una estructura antigénica bien definida, la cual resulta para identificarlos plenamente. Su pared celular se encuentra constituida por tres capas: la interna corresponde a un mucopéptido bacteriano, la capa intermedia es conocida como carbohidrato “C” y su composición química se considera específica de grupo y, la capa interna, está formada por proteínas M, T y R, las cuales determinan el serotipo de cada cepa. Finalmente se encuentra una capa que

---

<sup>4</sup> Ib. 3

<sup>5</sup> Kenneth J. Ryan, C. George Ray. “Sherris Microbiología Médica”. Cuarta edición. Ed. McGraw Hill, Pp.297-298

<sup>6</sup> Ib. 5

<sup>7</sup> Ib. 3

<sup>8</sup> Negroni Martha, “Microbiología Estomatológica, Fundamentos y Guía Practica” Primera reimpresión, Ed. Panamericana, 2001. Pág.203





recubre a la pared celular llamada “cápsula” que se encuentra constituida por un carbohidrato denominado ácido hialurónico<sup>9</sup>.

Dentro del punto de vista estructural y dependiendo de las características de cada especie, se pueden distinguir otros elementos que cobran gran interés:

- **Ácidos teicoicos y lipoteicoicos.** Ligados al peptidoglucano, poseen un carácter antigénico; además de intervenir en el proceso de adhesión. Los ácidos lipoteicoicos se asocian a fimbrias y a proteínas superficiales de la pared celular<sup>10</sup>.
- **Carbohidratos de la pared celular.** Posee un carácter antigénico e interviene en procesos de adhesión, agregación y coagregación bacteriana.
- **Proteínas de la pared celular.** Asociadas a la mureína, poseen un carácter antigénico ya sea independientemente o asociadas a ácidos lipoteicoicos y fimbrias; además de poseer actividades enzimáticas como glucosil y fructasil transferasas. Algunas de estas proteínas se comportan como adhesinas fijándose a superficies blandas o superficies duras a través de receptores de la biopelícula, de forma específica pueden actuar como elementos receptores de glucanos e incluso como factores de virulencia por su acción antifagocitaria ya que interfieren en la activación del complemento o se pueden comportar como antígenos.
- **Fimbrias.** Intervienen en la adhesión de los tejidos del hospedador y en la agregación y coagregación bacteriana.

---

<sup>9</sup> Garza Velasco Raúl. "Bacterias Patógenas" parte III. Cuadernos de la Facultad de Química, Departamento de Biología. México, Abril de 1999. Pág.34

<sup>10</sup> Liébana Op. cit., Pág.326



- **Capa mucosa.** Formada por polisacáridos extracelulares (homopolisacáridos) tipo glucanos, fructanos, toma su importancia en los fenómenos de adhesión y en la formación de biopelículas.

### 1.3 CLASIFICACIÓN DE LANCEFIELD

En 1933, Rebeca Lancefield diseña una forma más confiable de dividir a los estreptococos, de acuerdo a sus características serológicas de cada carbohidrato “C”: dicha subdivisión, en grupos que van desde la A hasta la W, excepto el I y J; está basada en las diferencias químicas y, por lo tanto, inmunológicas, de diversas cepas<sup>11</sup>.

Cabe mencionar que R. Lancefield aislaba a los estreptococos de exudados faríngeos provenientes de personas afectadas por padecimientos respiratorios y posteriormente preparaba los cultivos, a partir de los cuales extraía sus respectivos carbohidratos “C”. Una vez extraído el carbohidrato “C”, lo inoculaba en conejos y, previa sangría del animal inoculado, obtenía por centrifugación, el suero que contenía anticuerpos anticarbohidrato “C”. Al primer suero que preparó le asignó el nombre de suero anti-A; en consecuencia, denominó estreptococos del grupo “A” a todas aquellas cepas cuyo carbohidrato “C” reaccionaba positivamente con su suero anti-A.

Finalmente, el hecho de que algunas de las cepas no le hubieran reaccionado con el suero anti-A, la condujo a preparar los sueros anti-B, anti-C, anti-D y anti-E, a través de los cuales dio origen a los grupos correspondientes.

Los grupos restantes (que van desde la F en adelante) han sido establecidos en el transcurso de los últimos 30 años, por otros infectólogos que siguieron la misma técnica de R. Lancefield.

---

<sup>11</sup> Garza Velasco. Op. cit. Pp.34-35



GRUPO	ESPECIE (MAS FRECUENTE)	HEMOLISIS
Grupo A	<i>S. pyogenes</i>	Beta
Grupo B	<i>S. agalactiae</i>	Beta
Grupo C, F, G	<i>S. equi</i>	Beta
Grupo Viridans	<i>S. dysgalactiae</i>	Alfa
	<i>S. sanguis</i>	
	<i>S. mitis</i>	
	<i>S. salivarius</i>	
	<i>S. mutans</i>	
Grupo D	<i>S. anginosus</i>	
Grupo D	<i>S. bovis</i>	Variable
Grupo <i>Enterococcus</i>	<i>S. faecalis</i>	Variable
	<i>S. faecium</i>	
Neumococo	<i>S. pneumoniae</i>	Alfa o no hemólisis
Anaerobios	<i>Peptococcus</i>	No hemólisis
	<i>Peptoestreptococcus</i>	

Tabla 1. Especies de estreptococos según la clasificación de Lancefield y la producción de hemólisis <sup>12</sup>

## 1.4 CLASIFICACIÓN DE BROWN

Este autor encontró que los estreptococos pueden subdividirse en tres clases, dependiendo el tipo de hemólisis que se produce en las placas de gelosa sangre de carnero<sup>13</sup>.

La comprensión del párrafo anterior requiere del análisis de los siguientes conceptos:

Las hemolisinas elaboradas por estos microorganismos se denominan “estreptolisinas” y, de ellas, existen dos tipos:

1. La estreptolisina “S”, que es activa en presencia de O<sub>2</sub> y no es inmunogénica.
2. La estreptolisina “O”, que es inmunogénica e inactiva en presencia de O<sub>2</sub>.

<sup>12</sup> A. Pahissa Berga, C. Pigrau Serrallach, J.A. Capdevila Morell. “Infecciones estreptocócicas”. Servicio de enfermedades infecciosas. Hospital Vall d'Hebrón. Universidad Autónoma de Barcelona Barcelona. Pág. 1

<sup>13</sup> Garza Velasco. Op. cit. Pp.35-36

En general, se acepta que, en relación a la elaboración de estreptolisinas, los estreptococos muestran alguno de los tres comportamientos siguientes:

### 1. Síntesis de las estreptolisinas “S” y “O”

Las cepas producen hemólisis total o beta, ya que destruyen los eritrocitos que circundan sus colonias, desde la superficie del agar a través de la estreptolisina “S”, que es activa en presencia de  $O_2$ , hasta la parte profunda de la placa; en donde la presencia de  $O_2$  tiende a cero y la estreptolisina “O” puede actuar eficazmente (Fig. 2)<sup>14</sup>.



**FIG. 2 Producción de beta hemólisis en un cultivo agar-sangre, producida por *S. pyogenes***  
[www.Streptococcuspyogenes\\_01-1Tag-Columbia](http://www.Streptococcuspyogenes_01-1Tag-Columbia)

### 2. Síntesis de estreptolisina “S”

Las cepas producen hemólisis parcial o alfa, debido a que solo destruyen los glóbulos rojos que rodean sus colonias, únicamente en la parte superficial del agar. Cabe mencionar suele presentar una coloración verdosa porque, durante el proceso, la hemoglobina solo es transformada a biliverdina y no hasta bilirrubina. Por esta razón, se acostumbra referirse genéricamente a todos los estreptococos alfa hemolíticos, excepto; *S. pneumoniae*, como estreptococos del grupo viridans (Fig. 3)<sup>15</sup>.

14 Ib. 13

15 Ib. 13



**FIG. 3 Producción de alfa hemólisis.**

<http://www.telmeds.org/AVIM/Abacterio/coco>

3. Ninguna síntesis de estreptolisinas

Se refiere a las colonias que no producen hemólisis (Fig. 4)<sup>16</sup>.



**FIG. 4 Producción de gamma hemólisis**

<http://www.telmeds.org/AVIM/Abacterio/cocos>



## 1.5 ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO VIRIDANS

Los estreptococos del grupo viridans (SGV) son habitantes normales de la mucosa oral, respiratoria y gastrointestinal, donde juegan un papel importante en la prevención de la colonización de patógenos potenciales. Las infecciones clínicas por SGV ocurren, frecuentemente, ante una lesión en las zonas de su hábitat normal. Es conocido que diversos microorganismos de este grupo, como *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mutans*, tienen la capacidad de producir dextranos extracelulares que actúan como mediadores en los mecanismos de fijación, favoreciendo el establecimiento de nichos en diferentes superficies como son, los dientes y las válvulas cardíacas (Tabla 2)<sup>17</sup>.

Colman y Williams 1972	Facklam 1977	Coykendall 1989	Bruckner y Colonna 1997
<i>S. salivarius</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. salivarius</i>
<i>S. mitior</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. mitis</i>
<i>S. sanguis</i>	<i>S. sanguis II</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. sanguis</i>
<i>S. milleri</i>	<i>S. sanguis I</i>	<i>S. anginosus</i>	<i>S. milleri</i>
<i>S. mutans</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. mutans</i>
	<i>S. anginosus-constellatus</i>		
	<i>S. mutans</i>		
	<i>S. morbillorum</i>		
	<i>S. acidominimus</i>		
	<i>S. uberis</i>		

Tabla 2. Clasificación de *Streptococcus* del grupo viridans más aceptada<sup>18</sup>.

A pesar de considerarse patógenos de menor grado de virulencia, son agentes etiológicos de diversos procesos patológicos de gran repercusión sanitaria. Los SGV, y en especial *S. mutans*, son los agentes más importantes implicados en la caries dental que, sin ser un microorganismo que comprometa la vida, constituye una de las patologías actuales más frecuentes y costosas. Por otro lado, el torrente sanguíneo puede ser invadido transitoriamente por los SGV tras un traumatismo u otros

17 Coykendall AL. Classification and identification of viridans streptococci. Clin Microbiol Rev 1989; 2:315-328.

18 Alcalde Fernández de Vega F. "Aspectos microbiológicos de los estreptococos del grupo viridans". Servicio de Microbiología. Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge. Pág.3



procesos, que incluirían las manipulaciones dentales (extracciones y cirugías dentarias), cirugía del tracto respiratorio superior (por ejemplo, amigdalectomías)<sup>19</sup>.

En la actualidad, los SGV son responsables del 6-8% de los episodios de bacteriemias significativas. Cuando estos microorganismos acceden al torrente sanguíneo, las personas con válvulas cardíacas alteradas o pacientes con cáncer y neutropenia presentan un riesgo elevado de infección grave que puede comprometer la vida. Otro aspecto relevante es la diferente patogenicidad y afinidad orgánica de las especies de SGV. Los microorganismos más importantes que tienen una clara tendencia por la producción de infecciones supuradas invasoras pertenecen al grupo *Streptococcus anginosus/milleri*<sup>20</sup>.

La cavidad oral presenta un ambiente y propiedades que influyen en la composición y en la actividad de los microorganismos. La microbiota oral es muy compleja, llegando a comprender hasta más de 300 especies, que pueden llegar a colonizar y comportarse como microorganismos oportunistas, si el medio oral y las condiciones son favorables. Los Estreptococos del grupo *mutans*, en especial el *Streptococcus mutans* serotipo c, ha sido señalado como el más importante en la caries dental, es el más aislado en lesiones cariosas y el primer colonizador, existiendo otros como el *Streptococcus sanguis*, *sobrinus* y *cricetus*<sup>21</sup>.

La cavidad oral ejerce un control sobre el número de microorganismos presentes y el desarrollo se limita de acuerdo con el número de nutrientes que llegan por vía exógena (dieta). La presencia de factores antibacterianos en la saliva, el mecanismo de deglución y la continua exfoliación de células epiteliales, son mecanismos que evitan que los microorganismos se adhieran a la cavidad oral. Algunos microorganismos son retenidos en las superficies mucosas y en especial en los órganos dentarios por mecanismos de adherencia. El medio oral experimenta sus mayores cambios alrededor de los seis meses de vida, momento en el cual empiezan a erupcionar los órganos dentarios deciduos. Esto hace que se establezcan los

---

19 Id. 18

20 Johnson CC, Tunkel AR. Viridans streptococci and groups C and G streptococci. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, 5ª ed. New York: Churchill Livingstone, 2000; Pp. 2167-2183.

21 Menaker L.: Bases biológicas de la caries dental. Barcelona, Ed. Salvat. 1986. Silverstone LM; Hardie JM.; Johnson NW; Willians RA.: Caries dental etiología, patología y prevención. México, Ed. Manual Moderno. 1985.



microorganismos capaces de adherirse a las superficies del esmalte (*S. sanguis* y estreptococos del grupo *mutans*)<sup>22</sup>.

Este grupo está constituido por los estreptococos alfa hemolíticos, son residentes de la microbiota comensal de la cavidad oral y nasofaríngea; carecen de antígenos, toxinas y virulencia. Pueden colonizar superficies duras y blandas. Su acción patógena más importante es la formación de biopelículas y producción de caries dental, además de otros procesos patológicos como gingivitis, abscesos periapicales, pulpitis y celulitis, así como compromiso sistémico<sup>23</sup>.

Fuera de cavidad oral se han relacionado con procesos infecciosos como la endocarditis subaguda; en la que los estreptococos viridans pueden diseminarse a las válvulas cardiacas lesionadas anteriormente ya sea como consecuencia por una bacteriemia transitoria relacionada a procesos como extracciones dentales que desequilibran su hábitat. La producción extracelular de glucanos, pueden incrementarse y fijarse a las válvulas cardiacas de manera semejante con la patogénesis de la caries dental<sup>24</sup>.

Especies del grupo viridans (*S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius* y *S. mitis*) son la causa más común de endocarditis infecciosa. Los estreptococos del grupo viridans (*S. anginosus*, *S. milleri* y *S. intermedius*), causan abscesos cerebrales. Las intervenciones dentales es un factor predisponente de abscesos cerebrales, ya que existe una puerta de entrada para los estreptococos y microorganismos anaerobios que se diseminan al torrente circulatorio<sup>25</sup>.

*Streptococcus mutans* es el microorganismo cariogénico más estudiado y presenta varios componentes en su pared celular que pueden estimular la respuesta inmune en el hospedador. Los primeros microorganismos en colonizar la cavidad oral y los más numerosos son los estreptococos, estos colonizan la lengua y las mucosas (*Streptococcus salivarius*). La acidogenicidad, aciduricidad, acidofilicidad,

22 Negroni Martha, "Microbiología Estomatológica, Fundamentos y Guía Practica" Primera reimpresión, Ed. Panamericana, 2001. Pág.190

23 Kenneth J. Ryan. Op. cit. Pág. 320, Liébana. Op. cit. Pág. 328

24 Id. 18

25 Id 19





producción de dextranasa y la síntesis de glucanos, fructanos y polisacáridos intracelulares, son los principales factores de virulencia del *Streptococcus mutans* en la caries dental<sup>26</sup>.

Estos microorganismos al estar en contacto con determinados nutrientes y relacionarse con la película adquirida (P.A) a través de la matriz de polisacáridos, conforman un sistema en donde crecen, maduran y se multiplican, generando ácidos como producto del metabolismo de los hidratos de carbono y así iniciarse la caries dental.

## 1.6 ESPECIES DEL GRUPO VIRIDANS

Los estreptococos orales, también conocidos como viridans, relacionados con el hombre, pueden clasificarse en los grupos y especies siguiendo los criterios de Facklan (Tabla 3).

GRUPO	ESPECIES
<i>S. mutans</i>	<i>S. mutans, S. sobrinus, S. cricetus, S. rattus</i>
<i>S. salivarius</i>	<i>S. salivarius, S. vestibularis</i>
<i>S. anginosus</i>	<i>S. intermedius, S. anginosus</i>
<i>S. sanguis</i>	<i>S. sanguis, S. gordonii, S. parasanguis</i>
<i>S. oralis</i>	<i>S. mitis, S. crista</i>

Tabla 3. Clasificación de los estreptococos orales, siguiendo los criterios de Facklan<sup>27</sup>

### 1.6.1 Grupo *Streptococcus mutans*

Presentan ausencia de cápsula, fimbrias poco prominentes, contienen una capa mucosa que contiene glucanos solubles e insolubles; además de poseer glucosiltransferasas (GTF) de bajo y alto peso molecular. Dentro de la pared celular poseen polisacáridos que permiten diferenciarse de los serotipos a, b, c, d, e, f, g y h. Se piensa que estos polisacáridos intervienen en la adherencia interbacteriana<sup>28</sup>.

<sup>26</sup> <http://www.encolombia.com/odontologia/investigaciones/caries.htm>

<sup>27</sup> Facklan R. What happened to Streptococci overview of taxonomic and nomenclature changes. Clin. Microbiol. Rev 2002; 15: 616-630.

<sup>28</sup> Liébana Op. cit. Pág.334



En la pared, también pueden presentar proteínas que están relacionadas a fenómenos de fijación de glucanos, adherencia de la biopelícula e interbacteriana por mecanismos proteína-proteína o lectina-carbohidrato; que se ve favorecida por la saliva ya que posee cationes y glucoproteínas salivales. Son bacterias acidogénicas, acidófilas y acidúricas, son capaces de iniciar su desarrollo a pH 5. Su tolerancia a estos ácidos se debe a que tienen una actividad ATPasa para expulsar protones, por otra parte; eliminan azúcar mediante la puerta del lactato, además de sintetizar proteínas de estrés<sup>29</sup>.

Los miembros del grupo *mutans* son:

#### **1.6.1.1 *Streptococcus mutans***

Se considera un microorganismo cariogénico, tiene la capacidad de colonizar superficies duras, se aísla en cavidad oral y tiene un papel importante en la endocarditis subaguda. Su estructura antigénica posee polisacáridos parietales *c*, *e* y *f*, y proteínas que se asocian a la mureína conocidos como antígenos I/II (B, PI ó Pac). Estas proteínas pueden interactuar con receptores de la biopelícula, como proteínas ricas en prolina o como glucosiltransferasas (GTF) y receptoras de glucano en fenómenos de agregación y coagregación<sup>30</sup>.

#### **1.6.1.2 *Streptococcus sobrinus***

Su frecuencia es del 10-30% en cavidad oral, sus colonias en agar-sangre son alfa, beta o gamma hemolíticos, posee polisacáridos antigénicos *d* o *g* o puede carecer de estos. Contiene glucosiltransferasas (GTF) y proteínas parietales (SpaA y Pag) que median la adherencia de la biopelícula uniéndose a glucanos previamente adsorbidos ya que no puede adherirse<sup>31</sup>.

---

29 Id 28

30 Id 28

31 Liébana. Op. cit. Pág: 335



No sintetiza fructanos, además carece de fructosiltransferasas, no sintetiza polisacáridos intracelulares, es acidúrico y produce peróxido de hidrógeno, este podría actuar como un elemento regulador de la microbiota subsecuente<sup>32</sup>.

#### **1.6.1.3 *Streptococcus cricetus***

Es menos frecuentes en cavidad oral, sus colonias son alfa o gamma hemolíticas, posee polisacáridos parietales<sup>33</sup>.

#### **1.6.1.4 *Streptococcus rattus***

Poco frecuente en cavidad oral, se desconoce su patogénesis, posee polisacáridos parietales *b* y produce alfa o gamma hemólisis<sup>34</sup>.

### **1.7 *Streptococcus oralis***

Se agrupan las especies *S. sanguis*, *S. parasanguis*, *S. gordonii*, *S. crista* y *S. mitis*. Son alfa hemolíticos, producen peróxido de hidrógeno, no inician su crecimiento a pH 5, no sintetizan fructanos ni polisacáridos intracelulares, colonizan superficies blandas y duras, su capacidad cariogénica es escasa<sup>35</sup>.

#### **1.7.1 *Streptococcus sanguis***

Algunas cepas pueden incluirse en los serogrupos de Lancefield H y W. producen glucanos solubles e insolubles, ataca a la IgA 1 (bloquea adhesinas, evita fenómenos de adherencia), posee proteínas parietales (SSP-5) y permite la adherencia de la biopelícula a través de los receptores<sup>36</sup>.

---

32 Liébana. Op.cit. Pág.335

33 Id.32

34 Liébana. Op- cit. Pág: 336

35 Id.34

36 Id.34



### **1.7.2 *Streptococcus parasanguis***

Pueden incluirse los serogrupos de Lancefield B, C y F, no produce glucanos, carece de actividad IgAsa. Por medio de las proteínas parietales se adhiere a la alfa amilasa.

### **1.7.3 *Streptococcus gordonii***

Se incluye los serogrupos de Lancefield H, sintetiza dextranos y mutanos, se puede unirse a la alfa amilasa y a proteínas ricas en prolina.

### **1.7.4 *Streptococcus crista***

Algunas cepas pertenecen al serogrupo de Lancefield H y K, sintetiza glucanos solubles pero no insolubles, no se adhiere a la biopelícula a través de alfa amilasas. Posee una porción fibrilar lateral, que probablemente se relacione con los fenómenos de agregación y coagregación bacteriana<sup>37</sup>.

### **1.7.5 *Streptococcus oralis***

No posee polisacáridos de Lancefield, produce glucanos solubles e insolubles, tiene actividad proteásica sobre IgA 1, esta acción origina que la mucina tipo 1, forme parte de la biopelícula y fragmenta restos de ácido siálico que deja receptores libres, lo que hace que se adhieran otras bacterias<sup>38</sup>.

### **1.7.6 *Streptococcus mitis***

Carece de antígenos de Lancefield, no posee ácidos lipoteicoicos, puede sintetizar mutanos, dextranos y polisacáridos intracelulares. Se presentan dos biotipos, el tipo 1 no hidroliza arginina y se aísla en mucosa oral y placa supragingival; además de que coloniza superficies epiteliales ya que destruye receptores del ácido siálico o neuramínico, esto hace que altere las membranas celulares y así poder adherirse. El tipo 2, hidroliza arginina y se aísla en el dorso de la lengua<sup>39</sup>.

---

37 Liébana. Op. cit. Pág: 337

38 Id.37

39 Id.37



### ***1.8 Streptococcus salivarius***

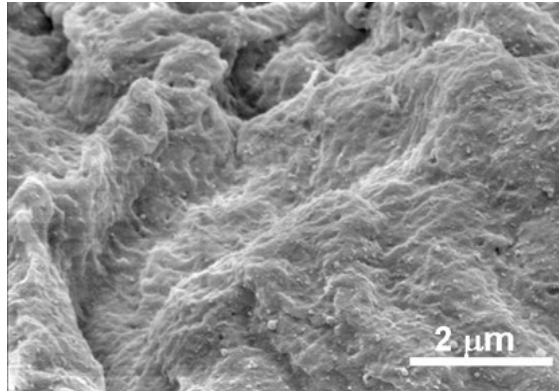
No produce hemólisis y raramente puede producir alfa o beta hemólisis, sintetiza polisacáridos intracelulares y fructanos. No inicia su crecimiento a pH 5. Su hábitat es el dorso de la lengua, no tiene actividad cariogénica. Algunas cepas pertenecen a los serogrupos H y K de Lancefield.

### ***1.9 Streptococcus milleri***

Agrupar a especies *S. intermedius* (no presenta hemólisis) y coloniza superficie duras y blandas de la cavidad oral, *S. anginosus* (pertenece al grupo de Lancefield A, C, F y G); además de tener beta hemólisis y *S. constellatus* (algunas de sus cepas de incluyen en el serogrupo F de Lancefield) y producen alfa y gamma hemólisis. No produce polisacáridos extra celulares e incapaces de iniciar su crecimiento a un pH 5.

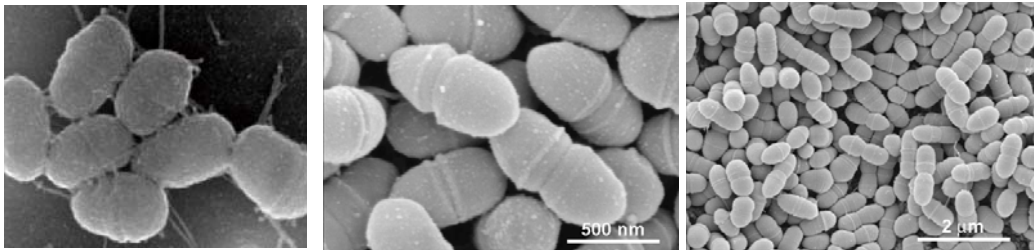
## 2. GENERALIDADES DE *Streptococcus mutans*

El inicio y desarrollo de la caries, se debe principalmente a los estreptococos del grupo *mutans*. La producción de polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa y concretamente de glucanos insolubles, desempeña un papel fundamental en la colonización y crecimiento de estreptococos del grupo *mutans* sobre el diente (Fig.5)<sup>1</sup>



**FIG. 5 Producción de polisacárido. Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de barrido**  
[www.den.hokudai.ac.jp/rikou/akasak/homemenu/...](http://www.den.hokudai.ac.jp/rikou/akasak/homemenu/...)

Se presenta en forma de coco, crecen en cadenas o en parejas, no tienen movimiento, no forman esporas y generalmente reacciona positivamente a la coloración de Gram (Fig. 6)<sup>2</sup>.

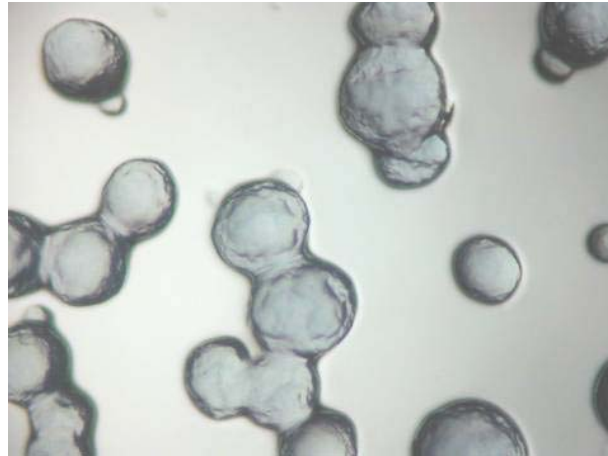


**FIG. 6 Imágenes obtenidas de *S. mutans* mediante microscopía electrónica de barrido, en donde se observa la forma típica del microorganismo.**  
[www.den.hokudai.ac.jp/rikou/akasak/homemenu/...](http://www.den.hokudai.ac.jp/rikou/akasak/homemenu/...)

<sup>1</sup> Oral Microbiology, UIT Basic Microbiology and Immunology, 4ta ed. Ed. Mosby, United State of America, 1982. Pp. 324-325.

<sup>2</sup> Duque de Estrada Riverón J., Pérez Quiñonez J.A., Hidalgo-Gato Fuentes I. "Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a Considerar" Facultad de Ciencias Médicas de Matanzas "Juan Guiterras Gener".

*S. mutans* ha sido señalado como el agente etiológico de la caries dental (hipótesis específica). Su crecimiento óptimo es a una temperatura de 37°C, sus colonias son duras, elevadas, y varían de tamaño desde 0.5 a 1.0 mm de diámetro, además puede observarse una gota de polisacárido extracelular brillante en la parte superior o a ambos lados (Fig. 7).



**FIG. 7** Gota de polisacárido extracelular producido por *S. mutans*  
[www.den.hokudai.ac.jp/rikou/akasak/homemenu/...](http://www.den.hokudai.ac.jp/rikou/akasak/homemenu/)

La pared celular consta de 6.8% de proteínas, 8.9% de ácidos teicoicos, 33.6% de polisacáridos, y 49.9% de péptidoglucano. Contiene antígenos, cuyos componentes se clasifican de la *a* hasta la *g*<sup>3</sup>.

*S. mutans* es el nombre poco preciso que se le ha asignado a una colección de siete diferentes especies (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. ferus*, *S. rattus*, *S. macacae* y *S. Downei*) y ocho serotipos (a – h). *S. mutans* serotipos c, e, f y *S. sobrinus* serotipos d y g, son las especies más comúnmente encontradas en humanos, las cepas de mayor prevalencia son del serotipo c, seguido de cepas del serotipo d y e; los otros serotipos son raramente encontrados<sup>4</sup>.

*S. mutans* juega un papel preponderante en la génesis de la caries dental, evidenciándose en los siguientes aspectos<sup>5</sup>:

<sup>3</sup> Ib. 62

<sup>4</sup> Samaranayake L.P. Essential Microbiology for Dentistry. Segunda ed. Ed. Churchill Livingstone, United States of American, 2002. Pp. 207-213.

<sup>5</sup> Ib. 64



- Correlación entre la cuenta de estreptococos y saliva y biopelícula con la prevalencia e incidencia de caries dental.
- En algunas ocasiones, *S. mutans* puede ser aislado de la superficie dentaria inmediatamente después del desarrollo de caries.
- Correlación positiva entre la lesión cariosa y cuenta de *S. mutans*.
- Producción de polisacáridos extracelulares a partir de sacarosa.
- La habilidad de iniciar y mantener el crecimiento microbiano y continuar produciendo ácido a niveles bajos de pH (acidúrico).
- Metabolismo rápido de azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos.
- Habilidad para alcanzar el pH crítico para la desmineralización del esmalte más rápidamente que otras bacterias comunes de la biopelícula.
- Habilidad para la producción de polisacáridos intracelulares como glucógeno, el cual puede actuar como fuente energética de almacenamiento para emplearlo cuando el suministro de carbohidratos es bajo.
- La inmunización o vacunación de animales de experimentación con serotipos específicos de *S. mutans*, reduce significativamente la incidencia de caries.

Es un microorganismo ecológicamente dominante en uniones bacterianas que se presentan sobre la superficie de los dientes. Además juega un papel muy importante en el establecimiento del ecosistema microbiano.

Esta bacteria es anaerobia facultativa, pero su crecimiento óptimo ocurre bajo condiciones anaerobias. *S. mutans* produce polisacáridos extracelulares a partir de la





sacarosa por la acción de dos enzimas: la **glucosiltransferasa (GTF)** y la **fructosiltransferasa (FTF)**<sup>6</sup>.

*S. mutans*, ha sido el más aislado en lesiones de caries dental humana, es el primero en colonizar la superficie del diente después de la erupción dental. Su nombre lo recibe por su tendencia a cambiar de forma, que se puede encontrar como coco o de forma más alargada, como bacilo<sup>7</sup>.

La adherencia de *S. mutans* en la superficie dental, está mediada por el glucano insoluble que se forma en la superficie de la célula bacteriana. Además de que produce glucosiltransferasas extracelulares, las cuales sintetizan glucano sobre la superficie dental.

La síntesis de glucanos catalizada por la enzima GTF, puede aumentar el potencial patogénico de la biopelícula dental promoviendo la acumulación de gran número de *Streptococcus* cariogénicos en los órganos dentarios.

Los factores del *S. mutans* responsables de su cariogenicidad incluyen la habilidad para adherirse a las superficies lisas y las propiedades acidogénicas acidúricas.

Esta gran afinidad por las superficies dentales se debe a fenómenos de adhesión, agregación y coagregación bacteriana. La síntesis de polisacáridos intracelulares por *Streptococcus mutans* y su capacidad de metabolizarlos son factores de virulencia, ya que proporcionan a la célula un substrato de donde obtiene la energía y mantiene la producción de ácido durante largos períodos de tiempo. Además producen dextranasas y fructanasas, enzimas capaces de metabolizar los polisacáridos extracelulares, sobre todo los glucanos solubles, favoreciendo la producción de ácido y constituyendo un substrato en los períodos en que disminuye el aporte exógeno<sup>8</sup>.

6 López Soto O. P., Cardona Rivas D., Gutiérrez Jaramillo L., Parra Sánchez H. "Relación entre el recuento de *Streptococcus mutans* y el estado de salud dental". Revista digital de salud. Universidad Autónoma de Manizales. Facultad de Salud No. 1- Manizales- 2005.

7 Azevedo RV Palamin. Detection of streptococcus mutans strains producers of bacteriocin like substances (mutacin). Rev Fac Odontol Ribeirao Preto1985; 22(2): 69-74.

8 Cruz Flores José, González Barra Lida, "Caries dental". Cap. III. [www.Operatoria.I.htm](http://www.Operatoria.I.htm).



Recientemente se ha demostrado que *S. mutans* posee una feromona peptídica empleada en el sistema quorum-sensing (Sistema de Comunicación de la biopelícula mediado mediante señales bioquímicas entre las bacterias). Tanto la feromona peptídica como una histidina, son componentes de un mecanismo regulatorio que inducen competencia genética y les permite actuar más eficientemente en los biofilms que de forma planctónica<sup>9</sup>.

## 2.1 BIOPELÍCULA

La importancia de las biopelículas o biofilms se comenzó a estudiar desde mediados de la década de 1970, específicamente en 1978; cuando J.W. Costerton da una conferencia presentando sus investigaciones acerca de crecimientos de *Pseudomonas* sobre las rocas de algunos ríos. Para estos años el estudio de los microambientes naturales no estaba bien comprendido por lo que Costerton llamaba a estas estructuras biofilms y argumenta que esta asociación aumenta enormemente su resistencia contra los ataques<sup>10</sup>.

Costerton, en esta conferencia, terminó diciendo que podría ser posible que esta misma organización bacteriana se observa en procesos infecciosos humanos, ya que si las bacterias son capaces de organizarse en rocas también podrían hacerlo en instrumental médico como en los catéteres. Esta suposición enfurece a Harry Smith, el director de microbiología de la Universidad de Birmingham, el cual le responde que simplemente no puede extrapolar las situaciones de un ecosistema a otro<sup>11</sup>.

Sin embargo, dos décadas después, gracias a los avances en la microscopía que permitieron entender la ultra estructura y dinámica de estas asociaciones, se pudo constatar este hecho, por lo que ahora es generalmente aceptado que los biofilms, ciertamente, juegan un papel importante en la enfermedad humana. Algunos estudios han encontrado crecimientos bacterianos en catéteres y otros instrumentales médicos, en cálculos renales y en hueso infectado.

<sup>9</sup> Li, Y; H, P.C.; Y. Lau, J. H. Lee, R.P. Ellen, D.G. Cuitkovitch.. Natural genetic transformation of *S. Mutans* growing in biofilms. *J. Bacteriol.* 200 , 1183:897-908.

<sup>10</sup> *Ib.* 48

<sup>11</sup> McCarthy M. Breeaking up the bacterial happy home. *The Lancet.* Jun 2001; 357:2032



Estos descubrimientos explican por qué ciertas infecciones son especialmente difíciles de combatir, a lo que Costerton, que actualmente es director del Centro de Ingeniería del Biofilm, en Montana, responde diciendo que para entender los biofilms se tiene que abandonar casi todo lo que se sabe de la microbiología tradicional, debido a que casi todos los estudios bacterianos se han realizado de forma individual o planctónica.

La cavidad oral es típicamente colonizada por algunas especies de bacterias gram positivas, muchas de ellas pertenecientes al grupo viridans. Sobresalen en este grupo *S. mutans* y *S. sobrinus*, los cuales han sido implicados como causantes primarios de la caries dental. La colonización de la cavidad oral requiere que las bacterias se unan a los componentes salivares, a otras bacterias y a los polisacáridos extracelulares tanto solubles (dextranos) como a los insolubles (mutanos), que son sintetizados por las mismas bacterias, para conformar la biopelícula (película adquirida)<sup>12</sup>.

Las proteínas de superficie de estos microorganismos han sido ampliamente estudiadas por su papel en la colonización así como su empleo potencial como blanco de las vacunas contra la caries. La superficie celular de *S. gordonii* y *S. sanguis*, exhiben al menos 20 polipéptidos<sup>13</sup>. Diversos estudios de análisis de secuencias de algunas de estas proteínas de superficie han revelado que los estreptococos del grupo viridans usan adhesinas similares para adherirse tanto a los tejidos como a los componentes de otras bacterias<sup>14</sup>.

---

12 Jenkinson, H. F. 1994. Cell surface protein receptors in oral streptococci. FEMS Microbiol. Lett. 121:133-140. Loesche, W. J. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. Microbiol. Rev. 1986. 50:353-380

13 Jenkinson, H. F. 1986. Cell-surface proteins of Streptococcus sanguis associated with cell hydrophobicity and coaggregation properties. J. Gen. Microbiol. 132:1575-1589

14 Douglas, C. W. 1994. Bacterial-protein interactions in the oral cavity. Adv. Dent. Res. 8:254-262



### 3. MECANISMOS DE ADHERENCIA DE *Streptococcus mutans*

Dos tipos de interacciones adhesivas mediante glucoproteínas salivales son determinantes críticos de la adherencia bacteriana en la cavidad oral. En primer término cualquiera, de las proteínas salivares se adhieren a las superficies de la boca, produciendo una delgada capa llamada *Película Adquirida* y en segundo, las bacterias interactúan con un juego específico de glucoproteínas salivares dependiendo de sí los receptores de la película adquirida están presentes o no. Por lo tanto, un factor importante que controla la adherencia es la naturaleza potencialmente bivalente de las interacciones adhesivas de las glucoproteínas salivales<sup>1</sup>.

El papel de las proteínas glucosiladas de la saliva, tanto en la formación de la película adquirida como en la adherencia bacteriana a las superficies orales y del diente es de especial interés, dado que la adherencia bacteriana es en ocasiones el resultado de interacciones específicas entre las porciones glucosídicas de receptores y complejos proteínicos (llamados adhesinas) sobre la superficie bacteriana ( Ofek and Perry, 1985)<sup>2</sup>.

Sólo los microorganismos que pueden adherirse y permanecer en la boca tienen la oportunidad de comenzar a crecer, multiplicarse, sobrevivir y establecerse como microorganismos de la microbiota bucal<sup>3</sup>.

La adhesión consiste en un fenómeno de interrelación que se establece entre los microorganismos y los tejidos del hospedero. El principal mecanismo de las bacterias gramnegativas y grampositivas, consiste en la interacción específica entre dos moléculas, una bacteriana o “**adhesina**” y otra del tejido del hospedero llamada “**receptor**”<sup>4</sup>.

1 Bowen William H., Tabak Lawrence A. "Cariology for the Nineties". University of Rochester Press, United States of America, 1993. Pp.107-115.

2 Ofek I., Perry A. "Molecular Basic of Bacterial adherence to Tissues. In molecular Basic of oral Microbial Adhesion. American Society for Microbiology, Washington, D.C. Pp.7-13.

3 Negroni Martha, "Microbiología Estomatológica, Fundamentos y Guía Practica" Primera reimpression, Ed. Panamericana, 2001. Pág.191

4 Id 56



Las adhesinas más conocidas son enzimas del tipo de glucosiltransferasas (GTF), glucanos solubles e insolubles, residuos de carbohidratos y proteínas superficiales de la pared celular (lectinas), proteínas que se fijan a la película adquirida, proteínas contenidas en las fimbrias, ácidos lipoteicoicos y el complejo formado por ácido lipoteicoico y proteínas de las fimbrias<sup>5</sup>.

Los mecanismos de adherencia microbiana más importantes son<sup>6</sup>:

1. Adherencia por ácido lipoteicoico
2. Adherencia por polisacáridos extracelulares
3. Adherencia por unión lectina-carbohidrato

### 3.1 ADHERENCIA POR ÁCIDOS LIPOTEICOICOS

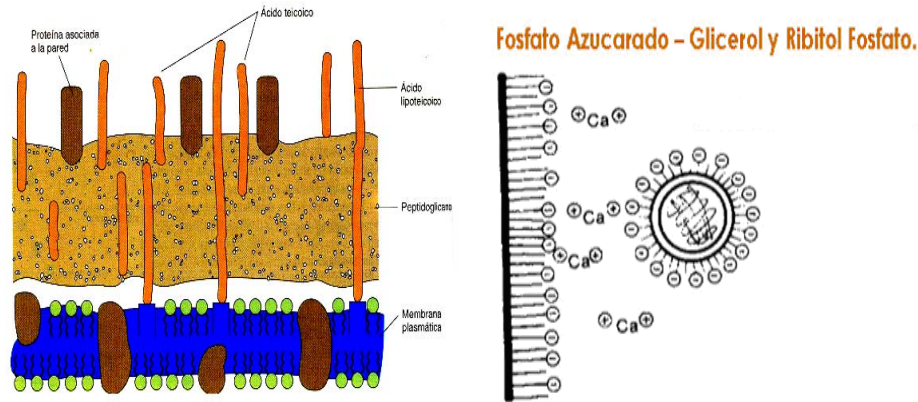
Las bacterias gram positivas presentan a menudo polisacáridos ácidos unidos a la pared celular denominados **ácidos teicoicos**. El término *ácidos teicoicos* incluye toda la pared, membrana o polímeros capsulares que contienen glicerol fosfato o residuos de fosfato de ribitol. Estos polialcoholes están unidos por ésteres de fosfato, y generalmente se les une otros azúcares y D-alanina. La carga negativa de la superficie celular es aportada por los ácidos teicoicos y puede servir para el trasiego de iones a través de la pared celular. De este modo el microorganismo se presenta con una carga electronegativa que le permite adherirse al ion calcio de la saliva y a través de éste, que actúa como puente, a la película acelular adquirida<sup>7</sup> (Fig. 8).

---

5 Negróni. Op. cit. Pág 192

6 Id. 58

7 T. Madigan M, M. Martinko J., Parker J. "Brock Biología de los microorganismos". Octava edición. Ed. PRENTICE HALL. España, 2000. Pp.72-73



(A) **FIG. 8A Estructura de la pared de las bacterias grampositivas, en donde se observa la disposición de los ácidos lipoteicoicos de la pared celular.**

(B) **FIG. 8B Adherencia de *S. mutans* por medio de los ácidos teicoicos con el ion calcio hacia la película adquirida.**

Madigan M, M. Martinko J., Parker J. "Brock Biología de los microorganismos". Octava edición. Ed. PRENTICE HALL

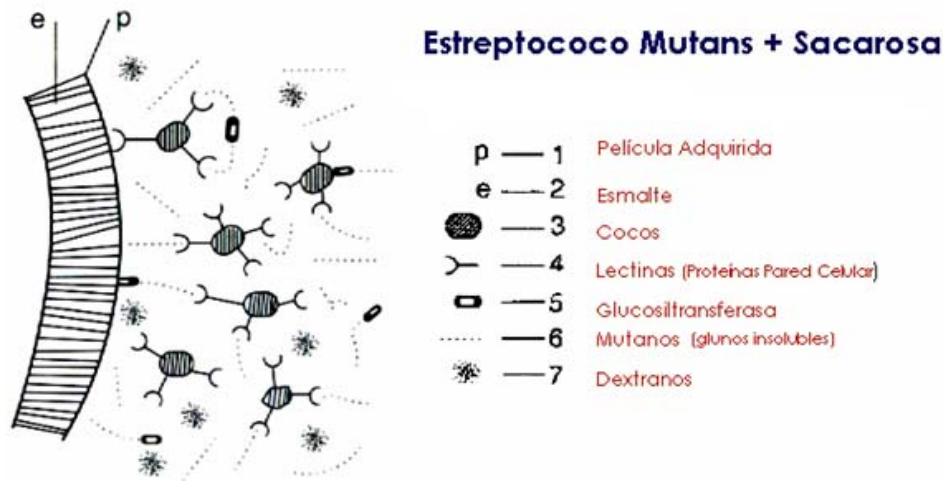
De igual forma, los ácidos teicoicos son empleados por la bacteria para el anclaje de bacteriófagos, virus que infectan bacterias y que contribuyen a la recombinación genética para permitir, entre otros fenómenos, la resistencia antibiótica<sup>8</sup>.

### 3.2 ADHERENCIA POR POLISACÁRIDOS EXTRACELULARES

Específicamente, un grupo de proteínas fibrilares de superficie conocidas como antígenos I/II (Ag I/II) de la familia de adhesinas, han sido implicadas en la adherencia inicial a la película salival adquirida de la superficie dentaria, y un grupo de enzimas denominadas **glucosiltransferasas (GTF)** secretadas sobre células asociadas están también involucradas en la acumulación de *S. mutans*. La **GTF** es una enzima secretada por *S. mutans*, que sintetiza glucanos a partir de la glucosa. Los glucanos son también uno de los principales medios involucrados en la adhesión y acumulación de esta bacteria<sup>9</sup>. (Fig. 9)

8 T. Madigan M, M. Martinko J., Parker J. "Brock Biología de los microorganismos". Octava edición. Ed. PRENTICE HALL. España, 2000. Pp.72-73

9 Alcota Marcela, González Fermin. "Avances en el desarrollo de una vacuna contra la caries dental". Revista Hospital Clínico Universidad de Chile Vol. 13 N° 2 ,2002.



**FIG. 9** Mecanismo de adherencia, en donde *S. mutans* actúa con los polímeros extracelulares para su adherencia al tejido dentario en presencia de sacarosa.

Las GTF se consideran un factor de virulencia en la caries, pues a través de ella se sintetizan glucanos que facilitan la adhesión de la sacarosa y la unión célula a célula de las bacterias. Se sabe que *S. mutans* produce hasta tres tipos diferentes de GTF (GTF-B, C y D), cada una con propiedades variadas. Los anticuerpos anti-GTF han demostrado tener el potencial para lograr una respuesta de IgAs e interferir con la adherencia de manera efectiva<sup>10</sup>.

En los glucanos solubles (dextranos) predominan los enlaces alfa (1-6) y en los insolubles (mutanos) (1-3). La formación de estos polímeros se debe a enzimas extracelulares como las glucosiltransferasas (GTF) y fructosiltransferasas (FTF), que parten a la molécula de sacarosa en monosacárido; los grupos glucosídicos y fructosídicos son transferidos a receptores de glucanos y fructanos<sup>11</sup>.

10 Yang J, Liu T, Zhuo X. Construction of eukaryotic expression plasmid pcDNA3-gtfB expressing glucosyltransferase B of *Streptococcus mutans*. 19(4): Aug 2001, 249-52.

González OA, García M, Gutiérrez SM, Jaramillo L, Rodríguez A. Respuesta inmune humoral mediada por IgA e IgG contra *S. mutans* en niños en etapa pre dental. <http://www.encolombia.com/odontologia/investigaciones/memorias>.

Kopec LK, Vacca AM, Wunder D. Influence of antibody on the structure of glucans. *Caries Res.* 2002;36:108-115.

Hajishengallis GN, Apostolopoulos AX. Glucosyltransferase (GTF) and immunization against dental caries in humans. *Odontostomatol Proodos.* Aug 1989.; 43(4):315-21.

11 Negróni. Op.cit. Pág. 227

Los mutanos son difíciles de degradar y tienden ser más adhesivos favoreciendo la unión a proteínas fijadoras de células y estimulan los fenómenos de adhesión y agregación bacteriana<sup>12</sup>.

Finalmente, se conoce que *S. mutans*, produce una proteína que se une a los glucanos denominada GBP. La GBP promueve la colonización por uniones de microorganismos que adhieren a glucanos, una potente protección contra la caries dental sería utilizar anticuerpos antiGBP<sup>13</sup>

### 3.3 ADHERENCIA POR UNIÓN LECTINA-CARBOHIDRATO

Las lectinas reconocen residuos de carbohidratos y se fijan a ellos. Estas uniones se producen en la película adquirida., mediante las fimbrias y las proteínas de superficie de los microorganismos. Además se observan residuos de galactosa como receptores para antígenos específicos superficiales (proteínas) presentes para *S. mutans*; mientras que los residuos de ácido siálico son receptores para *S. sanguis*<sup>14</sup>.

(Fig. 10)

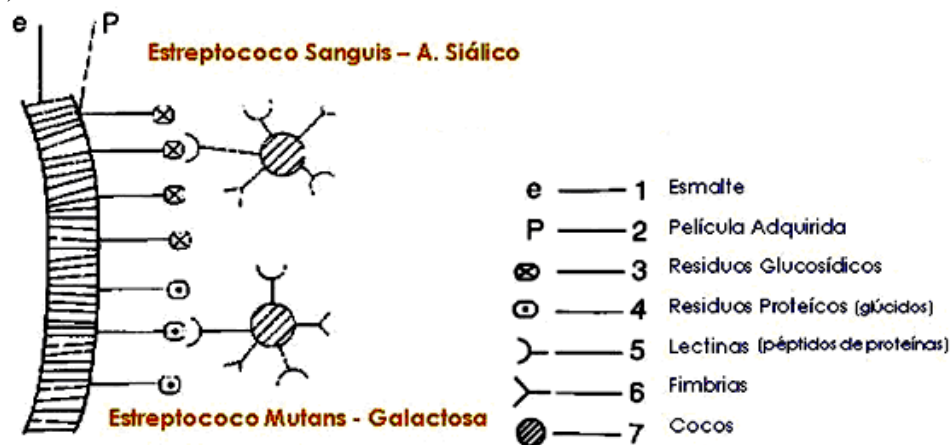


FIG. 10 Mecanismo de adherencia de *S. mutans* y *S. sanguis*, utilizando las uniones Lectina-Carbohidrato.

12 Negróni. Op. cit. Pág. 228

13 Smith DJ, Taubman MA. Experimental immunization of rats with *Streptococcus mutans* 59-kilodalton glucan binding protein against dental caries. Infect Immun 1996; 64: 3069-73.

14 Negróni. Op. cit. Pp. 192-193.





## 4. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ADHERENCIA

### 4.1 PROTEÍNAS SALIVALES

La adhesión de los microorganismos a las superficies dentales, es el paso inicial en la formación de la biopelícula (placa dentobacteriana), *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) es uno de los microorganismos que está asociado como el principal agente causal de una de las enfermedades más comunes en los humanos, la caries dental. La adherencia de esta bacteria se da por la interacción de adhesinas que la constituyen con los componentes salivales, específicamente con los que están formando parte de la película adquirida.

La saliva ejerce una importante influencia sobre la iniciación, maduración y metabolismo de la biopelícula. Además de la formación de cálculo, caries y algunas enfermedades periodontales. Las glucoproteínas sirven como receptores para la adhesión de algunas bacterias<sup>1</sup>.

Otra función de la saliva es la de formar películas protectoras o cutículas, pueden servir como receptores para la colonización bacteriana inicial; lo que permitirá la formación de grupos organizados y de biopelículas. Además de contener bacterias (aproximadamente de  $10^8$  a  $10^9$ /ml), ácidos orgánicos y enzimas, células epiteliales, restos alimenticios y componentes del líquido del surco gingival<sup>2</sup>.

Además, la saliva ejerce una influencia sobre la biopelícula; debido a que limpia mecánicamente las superficies dentales expuestas, regula los ácidos producidos por las bacterias mediante la capacidad “Buffer” y por su actividad antibacteriana<sup>3</sup>.

---

<sup>1</sup> A. Carranza Fermin, “Periodontología Clínica de Glickman”. 5<sup>ta</sup> edición. Ed. Interamericana. Pp. 402-406.

<sup>2</sup> J. Genco Robert, “Periodoncia”. 1<sup>ra</sup> edición en español. Ed. Interamericana. Pp. 121-129.

<sup>3</sup> Id., 69



## 4.2 MUCINAS

Las mucinas son glicoproteínas, la única secreción mucosa y contienen más del 40% de carbohidratos. Estas moléculas son multifuncionales y protectoras en su forma nativa<sup>4</sup>.

Realizar estudios en mucinas, conlleva un reto considerable, ya que los grupos de investigación dedicados a esta tarea se enfrentan a los siguientes obstáculos<sup>5</sup>:

- a) Cantidad de mucina en saliva, no ha sido actualmente determinado debido a la dificultad en obtener preparaciones de mucinas substancialmente libres de otros componentes, tales como la IgAs y lisozima.
- b) En consecuencia, las mucinas en estado puro no han sido fácilmente obtenidas para preparación de reactivos inmunológicos y su aplicación en estudios cuantitativos.
- c) Adicionalmente, muchos estudios han encontrado que el rango del flujo salival y la concentración de algunos componentes varía considerablemente entre individuos (Mandel, 1980, Ship et.al. 1991)<sup>6</sup>.

Consecuentemente, es difícil hacer cualquier correlación entre estos factores y la caries. La saliva es una mezcla compleja de macromoléculas, muchas de las cuales tienen funciones que se traslapan. Por lo tanto, es posible que un individuo pueda estar cuantitativamente deficiente en mucina sin efectos clínicos obvios por que otros componentes proveen un papel compensatorio. A pesar de estas dificultades se han intentado pocos estudios que evalúen la relación entre mucinas y caries.

Por lo anteriormente citado, los estudios realizados en mucinas se han hecho en relación a la formación de la biopelícula (placa dentobacteriana), ya que está bien establecido que la biopelícula es esencial en el desarrollo de la caries dental (Gibbons

4 H. Bowen William, A. Tabak Lawrence. "Cariology for the Nineties". University of Rochester Press, United States of America, 1993. Pp. 85-105.

5 Id. 71

6 Mandel I.D. The functions of saliva. J. Dent. Rest. 66 (Spec Iss)pp.623-633.



and van Houte, 1975; van Houte, 1980). Además es bien conocido que la saliva y las mucinas en particular, interactúan con las bacterias para modular la formación de la placa dentobacteriana<sup>7</sup>.

La mucina salival está compuesta por componentes glucoproteicos de la saliva. La concentración de la mucina es la responsable de la viscosidad salival. Las glucoproteínas mucinosas de alto peso molecular se relacionan estrictamente con los microorganismos que contribuyen a la formación de la biopelícula<sup>8</sup>

Algunos estudios demuestran que la adhesión bacteriana a las superficies dentales, está mediada por mucinas salivales que cubren las superficies de los dientes como parte de la cutícula del esmalte. Por el contrario, la cubierta de las bacterias no adheridas mediante moléculas salivales (mucinas) puede impedir la adhesión a las superficies dentales y así facilitar la limpieza microbiana de la cavidad bucal; estas interacciones pueden ser selectivas y mediadas, por las cadenas de carbohidratos de las mucinas<sup>9</sup>.

#### 4.3 PROTEÍNAS RICAS EN PROLINA Y GLUCOPROTEÍNAS

Agrupan fosfoproteínas básicas y ácidas, además de glucoproteínas. La prolina le confiere rigidez estructural a las moléculas. Incluyen proteínas denominadas ácidas (fosfoproteínas), glucoproteínas ácidas, proteínas ricas en prolina, glucoproteínas. Estas proteínas salivales se unen a la superficie del diente por medio de enlaces iónicos, por lo que se unen a la hidroxiapatita del esmalte<sup>10</sup>.

Las fosfoproteínas ácidas ricas en prolina, evitan la precipitación de las sales fosfato-calcio, y así protegen la superficie dental de la desmineralización y la formación de cálculo dental. La afinidad de estas proteínas por la hidroxiapatita, explica la formación de la biopelícula.

7 Gibbons, R. J. Aspects of the Attachment of Oral Streptococci to Experimental Pellicles, In: Molecular Basic of Oral Microbial Adhesion, S.E. Mergenhagen and B. Rosan, Eds. Washington: American Society for Microbiology.

8 Lewis Menaker, "Bases biológicas de la caries dental". Ed. Salvat, Barcelona, España 1986. Pp. 119-135.

9 Id. 75

10 Id. 75



#### 4.4 HISTATINAS Y ESTATERINAS

Estas moléculas están relacionadas en la formación de la cutícula adquirida; además de inhibir la precipitación de sales de fosfato de calcio, muestran actividades bactericidas. La estaterina presenta una afinidad a la hidroxiapatita y desempeña una función en la desmineralización al obstaculizar la precipitación de sales de fosfato de calcio.

#### 4.5 ALFA AMILASA

Es una enzima más abundante de la saliva. Hidroliza enlaces alfa 1-4 en polisacáridos que contienen glucosa. Recientemente se ha demostrado, la habilidad que tiene de obstaculizar el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae*. La presencia de ésta en la cutícula del esmalte y la capacidad de fijar al *Streptococcus sanguis*, indica la colonización microbiana oral<sup>11</sup>.

---

11 Lewis Menaker, "Bases biológicas de la caries dental". Ed. Salvat, Barcelona, España 1986. Pp. 119-135.



## 5. ADHERENCIA DE ESTREPTOCOCOS VIRIDANS AL ENDOTELIO CARDIACO

### 5.1 ENDOCARDITIS BACTERIANA SUBAGUDA

La endocarditis infecciosa (EI) es la afectación microbiana del endotelio cardiaco. La lesión característica es la vegetación, que puede ubicarse en el aparato válvular o comprometer otro sector del endocardio, siendo el agente causal bacterias (90%) y hongos (10%).

La endocarditis bacteriana producida por estreptococos del grupo viridans, por lo general dan hemocultivos positivos tardíos (aproximadamente de 30 a 45 días después) de la primer muestra; debido a que la adherencia de los estreptococos orales a la válvula depende de la producción de un polisacarido extracelular complejo, el dextrano. Este polímero juega un papel de importancia en la unión del *Streptococcus mutans* con el esmalte dental en la patogenia de la caries. Es muy probable que el dextrano extracelular sea la causa de la alta adhesividad a la válvula lesionada, dependiendo entonces de una gran colonización bacteriana de dicha válvula.

Las bacterias relacionadas a la endocarditis bacteriana infecciosa y la frecuencia son las siguientes:

BACTERIAS	FRECUENCIA
<i>Streptococcus</i>	53% (Viridans)
<i>Staphilococcus</i>	27.4% ( <i>S. aureus</i> , coagulasa negativo)
<i>Enterococcus</i>	13.70%
Bacilos Gram negativos	5.90%

**Tabla 4. Relación de bacterias frecuentes que causan EI**

La adherencia de los estreptococos orales en la endocarditis; puede depender de la producción de un polisacarido extracelular complejo, el dextrano. Este polímero juega un papel de importancia en la unión del *Streptococcus mutans* con el esmalte dental en la patogenia de la caries.



La mayor capacidad para adherirse a las superficies, también puede ser importante en la Endocarditis Infecciosa (EI). En un análisis de 719 casos de infecciones estreptococcicas en el Reino Unido, se hallaron 317 casos de EI. Los agentes etiológico más comunes fueron: *S. sanguis* (16.4%) y *S. mutans* (14.2%). Ello sugiere que la producción de **dextrano extracelular** también puede ser un factor de **virulencia** en la patogenia de la EI<sup>1</sup>.

Es necesario el control de placa bacteriana antes de comenzar el tratamiento odontológico. La utilización de gluconato de clorhexidina, resulta eficaz en el control de placa bacteriana.

La farmacoterapia empleada en pediatría, para prevenir la EI, es la siguiente: Amoxicilina 50 mg/kg. de peso, eritromicina 20 mg/kg. de peso y clindamicina 10 mg/kg. de peso. La dosis de repetición es la mitad de la dosis inicial. La dosis total en niños no debe exceder de la correspondiente del adulto<sup>2</sup>.

---

1 <http://www.sdpt.net/par/endocarditisbacterianasubaguda>

2 American Heart Association. Prevention of Bacterial Endocarditis. Endorsed by the American Academy of Pediatric Dentistry. 1997. Pp. 227-237.



## CONCLUSIONES

- El sustrato para el desarrollo de los microorganismos cariogénicos, especialmente de *S. mutans*, debe estar presente en los alimentos como un factor indispensable para la formación de la caries. Este sustrato especialmente está representado por los carbohidratos (sacarosa).
- El azúcar más conocido es la sacarosa, y a su vez se considera el más cariogénico, ya que al ser metabolizado produce ácidos; así mismo porque *S. mutans* lo utiliza para producir glucano, polisacárido extracelular, lo que le permite adherirse firmemente al tejido dentario.
- La sacarosa, lactosa y otros disacáridos poseen bajo peso molecular, en consecuencia son solubles en saliva, esta propiedad les permite fácil difusión dentro de la biopelícula, por lo tanto, son biodisponibles para ser metabolizados a productos finales, como el ácido láctico por los microorganismos acidúricos presentes en la cavidad oral del niño.
- Existen autores que recomiendan vigilar la frecuencia de consumo de azúcares, la cantidad y concentración de la sacarosa y el uso de sustitutos de los azúcares. Además han demostrado la relación estrecha que existe entre la frecuencia de consumo de azúcares y las experiencias de caries dental en niños.
- La presencia de una sustancia azucarada en la boca, la existencia de microorganismos acidógenos y la susceptibilidad del huésped, son los distintos factores que al interaccionar conducen a la aparición de lesiones cariosas.



## BIBLIOGRAFÍA

Alcaide Fernández de Vega F. “Aspectos microbiológicos de los estreptococos del grupo viridans”. Servicio de Microbiología. Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge.

[http://www.seimc.org/control/revi\\_Bacte/pdf/SGVirid.pdf](http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/pdf/SGVirid.pdf) PP.7

Alcota Marcela, González Fermín. “Avances en el desarrollo de una vacuna contra la caries dental”. Revista Hospital Clínico Universidad de Chile Vol. 13 N° 2 2002.

American Heart Association. Prevention of Bacterial Endocarditis. Endorsed by the American Academy of Pediatric Dentistry. 1997;9:358-366.

Azevedo RV Palamin. Detection of streptococcus mutans strains producers of bacteriocin like substances (mutacin). Rev Fac Odontol Ribeirao Preto 1985;22(2):69-74.

Bowen William H., Tabak Lawrence A. “Cariology for the Nineties”. University of Rochester Press, United States of America, 1993.

Coykendall AL. Classification and identification of viridans streptococci. Clin Microbiol Rev 1989; 2:315-328.

Douglas, C. W. 1994. Bacterial-protein interactions in the oral cavity. Adv. Dent. Res. 8:254-262

Facklan R. What happened to Streptococci overview of taxonomic and nomenclatura changes. Clin. Microbiol. Rew 2002; 15:616-630.





- Garza Velasco Raúl. “Bacterias Patógenas” parte III. Cuadernos de la Facultad de Química, Departamento de Biología. México, Abril de 1999. Pp. 125
- González OA, García M, Gutiérrez SM, Jaramillo L, Rodríguez A. Respuesta inmune humoral mediada por IgA e IgG contra *S. mutans* en niños en etapa pre dental.  
<http://www.encolombia.com/odontologia/investigaciones/memorias>.
- H. Bowen William, A. Tabak Lawrence. “Cariology for the Nineties”. University of Rochester Press, United States of America, 1993. Pp.461
- Hajishengallis GN, Apostolopoulos AX. Glucosyltransferase (GTF) and immunization against dental caries in humans. *Odontostomatol Proodos*. Aug 1989.; 43(4):315-21.
- J. Genco Robert, “Periodoncia”. Primera edición en español. Ed. Interamericana, México, 1983. Pp.770
- Jenkinson, H. F. 1986. Cell-surface proteins of *Streptococcus sanguis* associated with cell hydrophobicity and coaggregation properties. *J. Gen. Microbiol.* 132:1575-1589.
- Jenkinson, H. F. 1994. Cell surface protein receptors in oral streptococci. *FEMS Microbiol. Lett.* 121:133-140.
- Johnson CC, Tunkel AR. Viridans streptococci and groups C and G streptococci. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5ª ed. New York; Churchill Livingstone, 2000; Pp. 2167-2183.
- Kenneth J. Ryan, C. George Ray. “Sherris Microbiología Médica”. Cuarta edición. Ed. McGraw Hill, México, 2001. Pp.1060



- Kopec LK, Vacca AM, Wunder D. Influence of antibody on the structure of glucans. *Caries Res.* 2002;36:108-115.
- Lewis Menaker, “Bases biológicas de la caries dental”. Ed. Salvat, Barcelona, España 1986. Pp: 327
- Li, Y; H, P.C.; Y. Lau, J. H. Lee, R.P. Ellen, D.G. Cuitkovitch.. Natural genetic transformation of *S. Mutans* growing in biofilms. *J. Bacteriol.* 200, 1183:897-908.
- Liébana Ureña J. Microbiología oral. Segunda edición, México, Ed. Panamericana, 2002. Pp.677
- Loesche, W. J. Role of *Streptococcus mutans* in human dental Decay. *Microbiol. Rev.* 1986. 50:353-380
- López Soto O. P., Cardona Rivas D., Gutiérrez Jaramillo L., Parra Sánchez H. “Relación entre el recuento de *Streptococcus mutans* y el estado de salud dental”. *Revista digital de salud. Universidad Autónoma de Manizales. Facultad de Salud No. 1- Manizales- 2005.*
- Mandel I.D. The functions of saliva. *J. Dent. Rest.* 66 (Spec Iss)Pp.623-633.
- Martínez Garriga Blanca, “Contribución al estudio de los mecanismos moleculares de la resistencia a Ciprofloxacina en *Streptococcus pneumoniae*”. Martínez Garriga Blanca, Tutor: Dr. M. Viñas. Tesis de doctorado, Universidad de Barcelona, Mayo, 2005.
- McCarthy M. Breeaking up the bacterial happy home. *The Lancet.* Jun 2001;357:2032.



- Menaker L.: Bases biológicas de la caries dental. Barcelona, Ed. Salvat. 1986.
- Silverstone LM; Hardie JM.; Johnson NW; Willians RA.: Caries dental etiología, patología y prevención. México, Ed. Manual Moderno. 1985.
- Negróni Martha, “Microbiología Estomatológica, Fundamentos y Guía Practica” Primera reimpresión, Ed. Panamericana, 2001. Pp.565
- Ofek I., Perry A. “Molecular Basic of Bacterial adherente to Tissues. In molecular basic of oral Microbial Adhesión. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Samaranayake L.P. Essential Microbiology for Dentistry. Segunda ed. Ed. Churchill Livingstone, United States of America, 2002. Pp.29
- Smith DJ, Taubman MA. Experimental immunization of rats with *Streptococcus mutans* 59-kilodalton glucan binding protein against dental caries. Infect Immun 1996; 64: 3069-73.
- T. Madigan M, M. Martinko J., Parker J. “Brock Biología de los microorganismos”. Octava edición. Ed. PRENTICE HALL. España, 2000. Pp. 349
- [www.den.hokudai.ac.jp/rikou/akasak/homemenu/...](http://www.den.hokudai.ac.jp/rikou/akasak/homemenu/...)
- [www.encolombia.com/odontologia/investigaciones/caries.htm](http://www.encolombia.com/odontologia/investigaciones/caries.htm)
- [www.sdpt.net/par/endocarditisbacterianasubaguda](http://www.sdpt.net/par/endocarditisbacterianasubaguda)
- [www.Streptococcuspyogenes\\_01-1Tag-Columbia](http://www.Streptococcuspyogenes_01-1Tag-Columbia)
- [www.telmeds.org/AVIM/Abacterio/coco](http://www.telmeds.org/AVIM/Abacterio/coco)
- Yang J, Liu T, Zhuo X. Construction of eukaryotic expression plasmid pcDNA3-gtfB expressing glucosyltransferase B of *Streptococcus mutans*. Infect Immun 19(4): Aug 2001;249-52.

