



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**INTERACCIÓN DE LA BIOPELÍCULA EN EL
DESARROLLO DE LA CARIES DENTAL EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS DE 5 A 12 AÑOS.**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

HUGO ROSAS CRUZ

TUTORA: C.D. REBECA ACITORES ROMERO.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A DIOS por darnos las armas para seguir nuestros objetivos, por hacer de la vida un constante reto, lleno de metas y satisfacciones, en la búsqueda de su logro. Gracias.

A mis abuelitos CRISTINA y MAXIMINO, por darme su cariño y enseñanza, por inculcarme sabiduría en la toma de decisiones en todo momento. Gracias.

A mis Padres, JUANA y SILVESTRE, por darme vida, amor y educación por su gran apoyo para seguir adelante. Gracias.

A mis hermanas JANETH y MIRIAM, por su comprensión y cariño, formando parte importante en mi vida. Gracias.

A CAROLINA, que en este momento de mi vida ha formado parte importante, por su constante apoyo y cariño. Gracias.

A mis buenos amigos Jonathan, F. Sandino, Jorge, Juan, Santiago, Vic., Isra, Lili, Esther, Dado..., por estar siempre conmigo incondicionalmente. Gracias.

Un agradecimiento muy especial a mi Facultad, por darme no solo enseñanza y hospitalidad, sino los momentos más felices, como es lograr ser profesionalista.

A la Doctora Rebeca Acitores Romero, por su valiosa ayuda y colaboración, en el desarrollo de la presente Tesina. Gracias.

ÍNDICE.

Introducción.

1.- Biopelícula Microbiana.

1.1.- Biopelícula Concepto.....	6
1.2.- Bacterias Involucradas.....	8
1.3.- Formación de la Biopelícula.....	10
1.4.- Hipótesis de la Formación.....	12
1.5.- Fases de la Formación.....	13
1.6.- Estructura de la Biopelícula.....	19
1.7.- Metabolismo Microbiano en las Biopelículas.....	25
1.8.- Mecanismos de Resistencia en las Biopelículas.....	27

2.- La Caries Dental

2.1.- Concepto.....	34
2.2.- Etiología de la Caries Dental.....	36
2.3.- Evidencias de que la Caries Dental es una Enfermedad Infecciosa Contagiosa.....	38
2.4.- Causas que Provocan la Caries Dental.....	39
2.5.- Otras Causas que se pueden Observar.....	40
2.6.- La Dieta.....	41
2.7.- Síntomas de la Caries Dental.....	42
2.9.- Utilidad del Flúor.....	43
2.10.- Tratamiento de la Caries Dental.....	44
2.11.- Situaciones que requieren Asistencia Médica.....	47
2.12.- Prevención de la Caries Dental.....	47
2.13.- Recomendaciones.....	51

3.- Conclusiones.....

	53
--	----

4.- Referencias Bibliográficas.....

	54
--	----

Introducción

La presente tesina tiene como objetivo demostrar como la biopelícula interacciona en el desarrollo de la caries, principalmente en pacientes pediátricos de 5 a 12 años de edad, los cuales son más susceptibles debido a su poca higiene oral. Para entender claramente lo que sucede cuando los órganos dentarios se deterioran, es provechoso saber lo que existe en la boca naturalmente; La saliva en la cavidad oral baña los órganos dentarios, los tejidos blandos que conforman la cavidad oral, protegiendo nuestra salud, la saliva mantiene dientes y tejidos blandos humectados, lubricando y lavando constantemente partículas de alimento restantes después de la ingesta, manteniendo bajos los niveles ácidos en la cavidad oral, protegiéndola contra muchos microorganismos patógenos.

La parte contraria, es que en saliva circulan normalmente bacterias, usándola como un medio de adherencia a la biopelícula o Biofilm. Ciertas proteínas en la saliva (glicoproteínas) se absorben en la superficie dental, creando una película fina que recubre los órganos dentarios, formándose inmediatamente después del cepillado dental; En solo unos minutos se puede sentir una película resbaladiza, húmeda en los dientes.

La adhesión bacteriana en la biopelícula, tiene implicaciones clínicas distintas desde el punto de vista del tratamiento, por lo que es importante conocer la susceptibilidad, así como estrategias utilizadas para su eliminación. Si una persona no tuviera ingesta y cepillara sus dientes dos veces al día, el proceso de adherencia bacteriana no lograría comenzar.

Los azúcares en alimentos que contengan carbohidratos, mientras que se digieren, estos se separan en azúcares simples, tales como glucosa y fructosa; algo de esta digestión comienza en la boca, los alimentos que se desglosan en azúcares simples en la boca se llaman los “carbohidratos fermentables”, estos incluyen los alimentos azucarados llamados chatarra, especialmente sucrosa, los azúcares en estos alimentos se combinan con las bacterias normalmente presentes en la boca para formar los ácidos como subproducto, estos ácidos

causan que el pH que reaccionan con las bacterias, desmineralicé los dientes. Pero no solamente se trata de lo que se ingiere, sino cuán frecuentemente se hace, cada vez que se ingieren carbohidratos fermentables, el pH sigue estando por debajo de 5,5 durante 20 a 30 minutos, dependiendo de la calidad de saliva, en cada individuo.

Las personas que beben refrescos o café durante todo el día o quienes comen muchos bocados pequeños de carbohidratos son más propensas a desarrollar caries, debido a los constantes niveles ácidos, lo que es peor es que algunas bacterias prefieren el azúcar, prosperando y multiplicándose en un ambiente ácido, por lo cual cuantas más azúcares se ingieren, más bacterias se adhieren aumentando más el ácido producido, este el ciclo se repite por sí mismo, creando un ambiente destructivo para los dientes.

La biopelícula ayuda a proteger los órganos dentarios contra el ácido que puede causar desmineralización, pero es una superficie preferida por bacterias y otros microorganismos que la colonizan, provocando el desarrollo de la placa dental, y el posterior proceso carioso.

Esta revisión hará una descripción de la biopelícula evidenciando su participación e interacción, en el desarrollo de la caries principalmente en nuestra comunidad infantil.

1. Biopelícula Microbiana

Concepto.

La adaptación genética permite la supervivencia de los microorganismos en ambientes rápidamente cambiantes, prosperando en casi cualquier nicho ambiental, como resultado de la flexibilidad de su expresión genética; un ejemplo importante y clínicamente relevante de la adaptación bacteriana, es a través de una expresión genética sistematizada y la habilidad de crecer como parte de una comunidad rodeada de una matriz de exopolímeros; referida en la literatura como una biopelícula microbiana.¹

Estas biopelículas microbianas han sido descritas en muchos sistemas desde que Antonie Van Leeuwenhoek usando su microscopio simple, examinó los “animalcules” (microorganismos) en la placa dental de sus propios dientes en el siglo XVI pero la teoría general de la predominancia de la biopelícula fue promulgada en 1978 Esta teoría afirma que la mayoría de las bacterias crecen en un matriz cerrada adherida a las superficies de todos los ecosistemas acuáticos diferenciándose profundamente de sus homólogas que se encuentran suspendidas en un medio líquido, es decir, en su forma planctónica.²

La capacidad de adherirse a las superficies es una propiedad general de casi todas las bacterias; esta depende de una serie de interacciones, a veces muy específicas, entre la superficie por colonizar, los microorganismos y el medio líquido.³

Costerton y Col en 1995, enfatizaron que la biopelícula puede adherirse a superficies e interfaces, incluyendo en la definición agregados microbianos y poblaciones adherentes con poros. El acoplamiento inicial con la superficie dispara la expresión de genes que controlan la producción de los componentes necesarios para la adhesión y la formación.⁸

Después de la limpieza dental, macromoléculas hidrofóbicas comienzan a adsorberse a la superficie para formar una denominada película adquirida. Esta

película esta compuesta de una variedad de glucoproteínas salivares (mucinas) y anticuerpos.⁴

La película altera la carga y la energía libre de la superficie, que a su vez aumenta la eficiencia de la adhesión bacteriana, estas se adhieren de forma variable; algunas poseen estructuras específicas como sustancias poliméricas extracelulares y fimbrias, que les permiten adherirse rápidamente al contacto, a diferencia de otras bacterias que requieren una exposición más prolongada para unirse firmemente.⁵

Una vez adheridas cambian su comportamiento, implicando un crecimiento celular activo de las bacterias antes inactivas y la síntesis de nuevos componentes de la membrana exterior.

La masa bacteriana se incrementa debido al desarrollo continuo de los microorganismos adheridos, acumulando de nuevas bacterias y a la síntesis de polímeros extracelulares, con el espesor incrementado, la difusión hacia adentro y hacia fuera de la biopelícula se hace cada vez más difícil, se genera un gradiente de oxígeno a través de la matriz de la biopelícula.³

Suelen darse condiciones completamente aeróbicas en las capas más profundas de los depósitos, el oxígeno es un factor ecológico determinante ayudando al crecimiento y multiplicación bacteriana; también se producen gradientes de disminución de los nutrientes suministrados por la saliva, como resultado del metabolismo bacteriano se obtienen gradientes inversos de productos de fermentación.⁶

Los productos de la dieta disueltos en saliva son fuente importante de nutrientes, para las bacterias de la placa supragingival, una vez constituida una bolsa periodontal más profunda, las condiciones de nutrición bacteriana es alterada, debido a la limitación del paso de sustancias disueltas en saliva; dentro de la bolsa periodontal, la fuente nutricional principal para el metabolismo microbiano proviene de los tejidos periodontales y del plasma sanguíneo.⁷

Muchas bacterias halladas en la bolsa producen enzimas hidrolíticas que degradan macromoléculas complejas del huésped a péptidos y aminoácidos

simples; siendo el principal factor en los procesos destructivos de los tejidos periodontales.

Bacterias Involucradas

La colonización primaria se debe a cocos grampositivos anaerobios facultativos. Se absorben a las superficies cubiertas por película poco tiempo después de la limpieza mecánica. La placa recolectada a las 24 horas, se compone principalmente de estreptococos de los que *S Sanguis* es el más destacado. En la siguiente fase, bacilos grampositivos, que inicialmente están presentes en números muy bajos, aumentan gradualmente y terminan por superar a los estreptococos.⁶

En la etapa de desarrollo de la placa predominan los filamentos grampositivos, particularmente los *Actinomyces spp.*. Las superficies receptoras de los cocos y bacilos grampositivos permiten la posterior adherencia de microorganismos gramnegativos, que tienen menor capacidad de adherencia a la película directamente. De esta manera pueden adherirse *Veillonella*, fusobacterias y otras bacterias anaerobias gramnegativas, la heterogeneidad de la placa va creciendo con el tiempo, alcanzando grandes cantidades de microorganismos gramnegativos. El resultado de esta evolución es un complejo dispositivo de especies bacterianas interrelacionadas. El intercambio de nutrientes entre las diferentes especies, así como las interacciones negativas, (producción de bacteriocinas), ayudan al establecimiento de la comunidad bacteriana estable.⁷

Este ensamblaje de microorganismos y sus productos extracelulares sobre una superficie biótica o abiótica representa un sistema biológico con un elevado nivel de organización, donde los microorganismos forman comunidades estructuradas, coordinadas y funcionales.⁹

Es importante destacar que estos agregados de células microbianas están irreversiblemente asociadas con una superficie y encerradas en una matriz

principalmente de polisacáridos, dentro de la cual se pueden encontrar materiales no celulares como minerales, partículas de corrosión, arcilla o partículas de cieno, o componentes sanguíneos, dependiendo del ambiente en el cual se desarrolle la biopelícula .^{3.9}

La biopelícula microbiana debería considerar no solo características fácilmente observables como por ejemplo, el acoplamiento celular irreversible a una superficie o interfase, la producción de una matriz de polisacáridos extracelulares por la célula para luego encajarse en ella, sino también otras atribuciones fisiológicas de estos organismos, como la alteración de la tasa de crecimiento y el hecho de que los microorganismos en las biopelículas transcriben genes que los organismos planctónicos no.²

La biopelícula como una comunidad microbiana, es caracterizada por células que están irreversiblemente adheridas a un sustrato, interfase o las unas a las otras, permaneciendo embebidas en una matriz de polisacáridos extracelulares que ellas mismas producen, exhibiendo un fenotipo alterado con respecto a la tasa de crecimiento y la transcripción genética. ²



Figura 1. Acumulación de bacterias asociadas con la superficie dental, que no pueden ser fácilmente removidas por enjuagues o un simple chorro de agua.

Recientemente se ha señalado que esta organización en comunidades microbianas embebidas y adheridas tanto a una superficie inerte como a un tejido vivo, representa la forma habitual de crecimiento de las bacterias en la naturaleza.

10

Formación de la Biopelícula



Figura 2. Formación de la biopelícula

La biopelícula que baña las superficies dentarias recibe el nombre, según la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS), corresponde a una entidad bacteriana proliferante con actividad enzimática que se adhiere firmemente a las superficies dentarias y por su actividad bioquímica y metabólica ha sido propuesta como el principal agente etiológico en el desarrollo de la caries dental.¹⁰

Recientemente ha surgido mucho interés científico en el proceso de la formación de la biopelícula, debido a que se reconoce que este proceso de formación es un aspecto importante en la mayoría de las enfermedades bacterianas, incluyendo osteomielitis, caries dental y diversas infecciones como aquellas relacionadas con equipos médicos, del oído medio, de implantes oculares y de pulmón en pacientes con fibrosis quística.³

El proceso de regulación para la elaboración de la biopelícula es cíclico y dinámico; donde las condiciones externas van a producir alteraciones en la expresión de los genes requeridos para su formación. Este proceso de formación conlleva a la modificación del microambiente de sus propios habitantes, los cuales deben sufrir alteraciones genéticas adicionales durante el proceso, fomentando la maduración de la biopelícula.¹



Figura 3. Imagen representativa de placa dento bacteriana

Hipótesis de la Formación

Existen muchas especulaciones acerca de las ventajas que presentan los microorganismos que viven en biopelículas con respecto a aquellos que viven como células individuales planctónicas; en este sentido, algunos autores han referido algunas razones por las cuales los microorganismos adoptan la estrategia de vivir en este tipo de comunidad.¹

De acuerdo con la teoría de la evolución de Darwin, la única fuerza que conduce el curso de las acciones de cualquier organismo es el buen estado para la reproducción, de manera tal que cualquier acción que incremente la proliferación hará perdurar a la especie; por lo tanto, los microorganismos creciendo en biopelículas pueden otorgar un buen estado para la reproducción a sus habitantes

al tener una tasa de crecimiento disminuida en comparación con aquellas bacterias que crecen en forma planctónica.¹

La hipótesis de la formación de la biopelícula como respuesta al estrés del medio ambiente es poco clara, ya que, si bien es cierto, los microorganismos experimentan cierto grado de protección y homeostasis cuando residen en biopelículas sin embargo, esto no explica porque las bacterias forman una comunidad inmóvil en un medio tan inhóspito como puede ser el cuerpo humano, por lo que aparentemente el estrés no es la única causa que predispone este modo de crecimiento.^{1,9}

El cuerpo humano, o al menos, parte de él, es rico en nutrientes y relativamente estable con respecto al contenido de agua, disponibilidad de oxígeno y temperatura, representando un lugar atractivo para las bacterias, por lo que esto podría representar una motivación para la formación de una biopelícula que las mantenga aseguradas en el organismo. No obstante, cuando la fuente de nutrientes es reducida, la bacteria se separa y transforma en planctónica, sugiriendo que la limitación de nutrientes es un estímulo para el progreso hacia un mejor hábitat.¹

La formación de la biopelícula también puede ser el resultado de un amplio rango de adaptaciones fisiológicas y morfológicas en respuesta a los cambios ambientales, tales como: diferentes gradientes nutricionales, químicos y de oxígeno, que crean microambientes a los cuales los habitantes se deben adaptar para sobrevivir.¹¹

También se ha sugerido que el estilo de vida comunitario es una motivación importante para la formación de biopelículas, ya que provee grandes beneficios a todos sus miembros; además de la resistencia a los cambios ambientales, se pueden beneficiar de la existencia comunal a través de la división de la carga metabólica y de la transferencia genética.¹

Justamente la transferencia genética puede representar una motivación adicional ya que la biopelícula provee un medio ideal para el intercambio de material

genético, beneficiando directamente a los microorganismos a través del intercambio de determinantes para la resistencia antibiótica.^{1,3}

Fases de la Formación

La capacidad de formación de las biopelículas no parece estar restringida a ningún grupo específico de microorganismos y en efecto se considera que bajo condiciones ambientales adecuadas todos los microorganismos son capaces de formar biopelículas. Estas organizaciones microbianas se pueden formar en una amplia variedad de superficies, incluyendo tejidos vivos, aparatos médicos, sistemas de tuberías de agua potable o sistemas acuáticos naturales.^{3,10}

Una vez que la superficie ha sido colonizada queda expuesta a un medio acuático; inevitable y casi inmediatamente se condiciona o cubre con polímeros del medio, resultando en una modificación química de dicha superficie. Esta película adquirida o condicionada se forma con sólo minutos de exposición, y continúa creciendo con el paso de las horas, variando su naturaleza dependiendo de la superficie expuesta en el cuerpo humano.³

La película condicionada siempre se forma antes de la llegada de los microorganismos, promoviendo la adhesión selectiva de algunos de ellos y actuando como una fuente de nutrientes. Numerosos microorganismos en la fase planctónica son transportados a la superficie, pero son las propiedades de la película condicionada las que determinan cuáles microorganismos adjunta, y por lo tanto influencia la composición microbiana de la biopelícula.¹³

Una vez que los organismos entran en contacto con la superficie, cualquier posible interacción está gobernada por reglas físico-químicas y biológicas, que van a modular la regulación de genes que ocurre en el interior de la célula microbiana. Es decir, para que los microorganismos puedan colonizar y asociarse con el sustrato, deben vencer ciertas características del medio como: la velocidad del flujo adyacente a la superficie y la repulsión hidrostática inicial que se establece entre la célula y la superficie.³

Para este fin, los microorganismos se valen de las estructuras celulares superficiales como: fimbrias, los lipopolisacáridos extracelulares (LPS), los polímeros extracelulares (EPS), flagelos y otras proteínas. Los polímeros de superficie con sitios no polares como las fimbrias y componentes de ciertas bacterias Gram negativas (ácido micólico) parecen dominar la adhesión a sustratos hidrofóbicos, mientras que los polímeros extracelulares (EPS) y los lipopolisacáridos son más importantes en la adhesión a sustratos hidrofílicos. Los flagelos son importantes en la adhesión, ya que están encargados de vencer las fuerzas de repulsión inicial entre el microorganismo y el sustrato.³

Sin embargo, aunque la motilidad y la presencia de flagelos ayudan al proceso, esto no parece ser un requisito esencial, pues muchas bacterias Gram positivas inmóviles como *estafilococos*, *estreptococos* y micobacterias son capaces de formar biopelículas. En el caso de las bacterias Gram positivas se ha descrito la participación de proteínas de superficie (AtlE, Bap, Esp) en esta primera etapa de adherencia primaria.¹⁵

La formación de la biopelícula ocurre en seis fases:

- Adhesión inicial del microorganismo a la superficie.
- Colonización
- Co-adhesión
- Crecimiento
- Maduración
- Desprendimiento de algunos microorganismos

Durante el transcurso de cada una de estas fases, los microorganismos presentan una expresión de genes bien regulada.^{11, 13}

La etapa inicial del proceso de formación de la biopelícula es la adherencia del microorganismo sobre la superficie pero para que esto ocurra debe haber un prerrequisito: la presencia de microorganismos en estado libre flotante en un medio acuoso, llamados microorganismos planctónicos.¹³

Inicialmente los microorganismos se asocian de manera reversible a la superficie y posteriormente se adhieren de forma irreversible.⁶

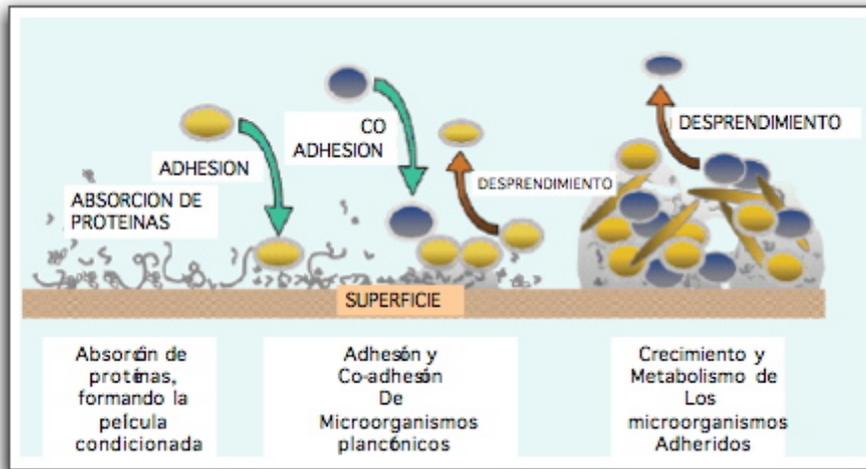


Figura 4 .Etapas de la formación de la biopelícula. Tomado de Svensater y Bergenholtz, 2004.

Durante la fase de adhesión se va a regular la expresión genética a través de varios sistemas de transducción por señales, que van a conducir hacia una cascada de diversas reacciones, permitiendo la inducción o inhibición de la transcripción de genes. Las moléculas que causan las señales, pueden ser inherentes al ambiente o ser desconocidas.^{10, 13}

Entre estos sistemas de transducción se encuentran los denominados sistemas de dos componentes y los sistemas que responden a las señales en función de la densidad celular, cuyo término en inglés es quórum sensing.^{10, 13}

Los sistemas reguladores de dos componentes, frecuentemente están involucrados en el control de la expresión genética en respuesta a un estímulo, transmitiendo la señal ambiental al interior del microorganismo para adecuar la expresión de genes a la nueva situación ambiental. Dichos sistemas existen tanto para organismos Gram positivos como Gram negativos participando en la

transducción de señales, y por lo tanto esenciales para la adaptación de la vida en biopelículas.^{10, 13}

El quórum sensing (término en inglés), representa una vía que es activada como respuesta a la densidad celular, y de igual manera son sistemas que se encuentran en microorganismos Gram positivos como en Gram negativos. El estímulo para la activación del quórum sensing son moléculas llamadas autoinductoras, las cuales son producidas en un nivel basal constante, de esta manera la concentración de moléculas va en función de la densidad microbiana, y por lo tanto, la percepción de la señal, va a ocurrir cuando la concentración de moléculas autoinductoras alcancen el umbral.¹⁷

Es por esta razón que el término quórum es usado para definir este tipo de sistemas, ya que se necesita que cierto número de microorganismos deban estar presentes para que la señal sea percibida por la población y entonces poder responder a esa señal.

Las bacterias Gram positivas usualmente producen oligopéptidos, los cuales son reconocidos por los sistemas de transducción de dos componentes, en tanto que para los organismos Gram negativos, las moléculas que disparan la señal pertenecen al grupo de homoserina. Estas moléculas generalmente difunden dentro de la célula obligando a regular la respuesta.^{1, 3}

Los microorganismos liberan dichas moléculas inductoras cuando se aproximan a la superficie que van a colonizar, aumentando la concentración de las mismas en el área entre el microorganismo y la superficie debido a la difusión limitada; de esta manera los patógenos van a percibir este incremento en la concentración y sentir la presencia de la superficie que están colonizando.¹¹

Todos estos sistemas de transducción por señales actúan en la regulación de la virulencia, así como de la formación de la biopelícula, sirviendo de conexión entre ambos procesos.¹⁰

Una vez que la bacteria se ha adherido a la superficie, comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de unión, formando una microcolonia.¹⁰

En una fase posterior, el patógeno comienza a secretar un exopolisacárido que constituye la matriz de la biopelícula y forma unas estructuras similares a setas o champiñones entre las cuales se observa la presencia de canales. La composición del exopolisacárido es diferente en cada bacteria y varía desde alginato en *P. aeruginosa*, celulosa en *S. typhimurium*, un exopolisacárido rico en glucosa y galactosa en *V. cholerae*, poly-N-acetilglucosamina en *S. aureus*, etc. Incluso una misma bacteria, dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentre, puede producir distintos exopolisacáridos como componentes de la matriz de la biopelícula.¹⁰

Seguidamente, ocurre la co-adherencia, que es el reconocimiento entre células, donde los organismos en la biopelícula pueden reconocer y adherirse a bacterias genéticamente distintas a través de adhesinas. Estas adhesinas reconocen proteínas, glicoproteínas o receptores de polisacáridos en las superficies, incluyendo otros tipos de células dando como resultado una arquitectura única para cada biopelícula.^{19, 20}

Una etapa posterior implica la multiplicación y el metabolismo de los microorganismos que se unieron, lo cual va a resultar en una comunidad microbiana mixta estructuralmente organizada. Durante esta fase las características inherentes de los microorganismos y la naturaleza del micro ambiente, influencia el crecimiento y sucesión de la población dentro de la biopelícula.¹³

Finalmente, algunos microorganismos de la matriz de la biopelícula se liberan de la misma para poder colonizar nuevas superficies, cerrando así el proceso de formación de la biopelícula. La liberación de las bacterias desde la matriz es la fase de la que se tiene menos conocimiento.^{10, 13}

Este proceso de separación parece ser un proceso continuo durante todo el desarrollo de la biopelícula. Es probable que la separación localizada de organismos comience después de la adhesión inicial y se incremente con el tiempo, lo que está relacionado con el número de microorganismos presentes en la biopelícula.¹³

La dispersión de células puede ocurrir por diferentes razones: liberación de células hijas debido a un crecimiento celular activo, separación como resultado de los niveles de nutrientes, liberación por señales del quórum sensing o por desprendimiento de agregados de la biopelícula por los efectos del flujo del medio ambiente en el que se desarrolla la biopelícula.³

Una vez que la biopelícula se ha establecido, la expresión de un número de adhesinas y factores de movilidad son suprimidos, sugiriendo que la función principal de las adhesinas, pilis, y flagelos es participar en la adhesión inicial; y una vez que el desarrollo de la biopelícula ha superado esta etapa, estas proteínas no son necesarias y su expresión es inhibida.¹

El tipo y disponibilidad de nutrientes va a influenciar la biopelícula a través de su desarrollo, desde la formación inicial de la película adquirida, pasando por la adhesión de bacterias pioneras y la producción de la matriz, hasta la competición bacteriana en las últimas etapas de la acumulación.¹³

Como resultado final de todo este proceso, la composición de la biopelícula va a reflejar el resultado de la sucesión de microorganismos, resultante de la competición durante la adhesión.¹²

Cada una de las fases de la formación está expuesta a una variedad de factores físico-químicos como: pH, temperatura, osmolaridad, radiación, luz, tensión de oxígeno y todos los posibles cambios regulares o irregulares que ocurran con estos factores.^{3, 14}

Estructura de la Biopelícula

Cada comunidad microbiana en biopelículas es única, aunque algunos atributos estructurales pueden ser generalmente considerados universales. Lo primero que se debe resaltar en este sentido es que la unidad básica estructural de la biopelícula es la microcolonia, la cual facilita la proximidad entre las células, favoreciendo un ambiente ideal para la creación de gradientes de nutrientes, intercambio de genes y quórum sensing.³

Aunque la composición de la biopelícula es variable en función del sistema en estudio, en general, el componente mayoritario es el agua, que puede representar hasta un 97% del contenido total. Además de agua y de las células bacterianas, la matriz de la biopelícula es un complejo formado principalmente por exopolisacáridos. En menor cantidad se encuentran otras macromoléculas como proteínas, ADN y diversos productos procedentes de la lisis de las bacterias.^{10, 12}

Los microorganismos producen cantidades diferentes de polímeros extracelulares, los cuales aumentan con la edad de la biopelícula. Estos polímeros pueden variar en su composición física y química, pero principalmente están compuestos por polisacáridos.³

Para las bacterias Gram negativas estos polímeros son neutrales o polianiónicos, permitiéndole la asociación con cationes divalentes como el calcio o el magnesio, con los cuales se pueden enlazar con otras hebras de polímeros brindando una gran fuerza de unión en el desarrollo de la biopelícula. En el caso de las bacterias Gram positivas, la composición química de los polímeros extracelulares es muy diferente y es principalmente catiónico.³

Una característica importante de los polímeros extracelulares, es que son altamente hidratados debido a que pueden incorporar grandes cantidades de agua dentro de su estructura por enlaces de hidrógeno, variando en su solubilidad y previniendo la desecación de la biopelícula.²

De igual manera, los biopolímeros son de suma importancia en las etapas tempranas y tardías de la formación de la biopelícula, así como en la agregación; en contribuir en la estabilidad mecánica de la estructura de la biopelícula y conferirle muchas de sus propiedades físicas, que les permite interactuar con otros polisacáridos, macromoléculas y células, así como con iones y solutos de bajo peso molecular, promoviendo una multitud de microambientes dentro de cualquier biopelícula.^{1, 2}

También se ha señalado, que los polímeros intervienen en la defensa permitiéndole resistir a las fuerzas de corte y a la fagocitosis por parte de las células de defensa.¹

Se ha reportado que dichos polímeros podrían funcionar como un mecanismo para almacenar nutrientes durante tiempos de abundancia, aunque cuando ocurre un estado de inanición o la supresión de múltiples nutrientes, se pudiera inducir la degradación de las reservas intracelulares; cambios en la composición de los ácidos grasos de la membrana citoplasmática, síntesis de exoenzimas y cambios de baja a alta afinidad por los sistemas de transporte de los aminoácidos.^{12, 23}

La producción de polímeros extracelulares esta afectada por el estado de nutrientes del medio de crecimiento y por el crecimiento microbiano; donde un crecimiento lento, conlleva a aumentar la producción de polímeros extracelulares.³

Una vez que la biopelícula ha sido formada y la matriz de exopolisacáridos ha sido secretada por las células, la estructura resultante es altamente viscosa y se comporta de manera elástica.¹⁴

Un determinante ambiental lo representan las fuerzas mecánicas, en particular las fuerzas de corte; las cuales van a ser producidas por el agua que fluye de un extremo al otro de la superficie, removiendo secciones de la biopelícula y teniendo un efecto profundo sobre la estructura resultante, alisando la superficie. Este proceso está combinado con el desprendimiento activo de células desde la matriz.¹⁴

Cuando la biopelícula es formada en ambientes con un flujo de poco movimiento, ellas tienen una baja resistencia a la tensión y son fácilmente rompibles; a diferencia de aquellas formadas bajo ambientes altamente cortantes que son marcadamente fuertes y resistentes a la ruptura mecánica, como por ejemplo la placa dental.^{2,9}

La estructura de estas comunidades microbianas varía desde monocapas de células dispersas a espesas capas celulares, así como a estructuras mucosas de dimensiones macroscópicas.¹⁴

Durante los últimos años la estructura de la biopelícula ha sido documentada y evaluada por el uso de una extensa variedad de microscopios y técnicas físico-químicas y de biología molecular, revelando generalmente una estructura tridimensional compleja.¹⁴

Es de esta manera que se han descrito al menos tres tipos de estructuras en las biopelículas; la primera de ellas corresponde a la vista plana y tradicional característica de la estructura homogénea, denominada modelo de la biopelícula densa, la cual fue introducida por los investigadores dentales al estudiar la placa dental con microscopio electrónico de transmisión. Dichas observaciones mostraron numerosas microcolonias de bacterias de forma similar dentro de una estructura densa sin evidencia de canales de agua o poros atravesándola.^{11, 12, 4}

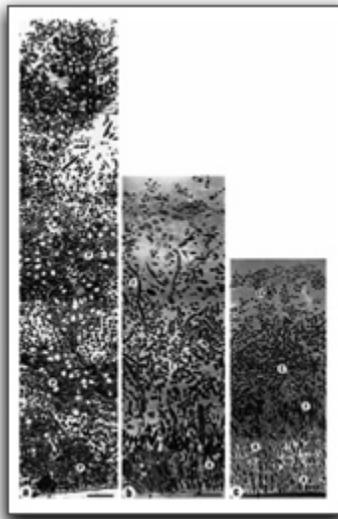


Figura 5. Microfotografía de la placa dental de tres individuos, donde se observa una estructura densa, microcolonias y algunas asociaciones celulares, ejemplificando el modelo de la biopelícula densa. Tomado de Wimpenny y Colassanti, 1997.

El segundo tipo de estructura se definió como el modelo del mosaico heterogéneo y fue descrito al estudiar el interior de las superficies de los sistemas de distribución de agua usando microscopio de contraste diferencial. Este modelo mostraba microcolonias juntándose en pilas sobre el sustrato, pero generalmente bien separada de sus vecinas.^{12, 4}

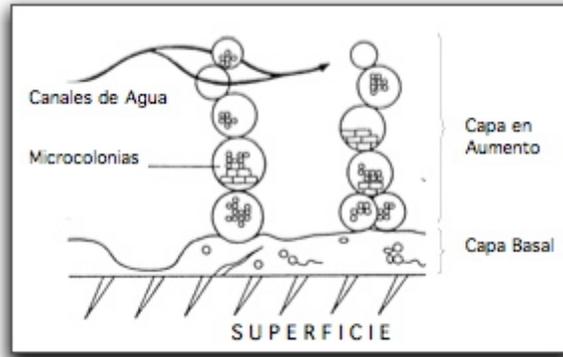


Figura 6 . Diagrama del Modelo del Mosaico Heterogéneo. Tomado de Wimpenny y Colassanti, 1997.

Por último, el tercer tipo de estructura que tal vez represente el concepto actual de biopelícula, está denominado como el modelo tulipán o champiñón, o también llamado, modelo de los canales de agua; el cual fue descrito usando microscopia confocal con el uso de marcadores fluorescentes. Este modelo revela una estructura común no sólida, en forma de champiñón o tulipán con el tallo mas estrecho que su porción superior. Ésta estructura superior puede frecuentemente fusionarse, dejando galerías o canales a través de los cuales los fluidos ambientales pueden moverse, actuando como transporte de nutrientes, removiendo productos de desecho y actuando como conductos para moléculas mensajeras.^{14, 2}

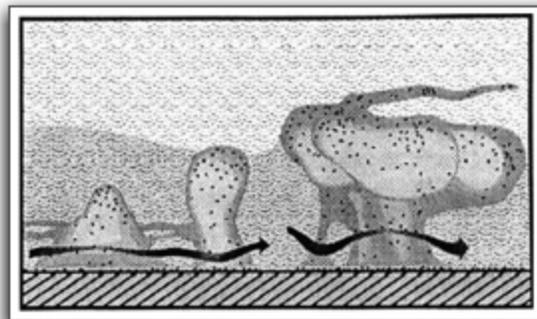


Figura 7. Diagrama del Modelo Tulipán o Champiñón. Tomado de Wimpenny y Colassanti, 1997.

La existencia de estos canales no evita sin embargo, que dentro de la biopelícula podamos encontrarnos con ambientes variables en los que la concentración de nutrientes, pH u oxígeno es diferente. Esta circunstancia aumenta la heterogeneidad sobre el estado fisiológico en el que se encuentra la bacteria y dificulta su estudio.¹⁰

Es importante mantener una arquitectura para que la biopelícula sea funcional; en este sentido, Davey y col, descubrieron que ciertos microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa* mantienen activamente la estructura tridimensional de su biopelícula a través de la liberación de moléculas surfactantes que evitan que otros microorganismos se aglomeren en el sistema de canales de la estructura.⁵

La arquitectura de la biopelícula es heterogénea tanto en espacio como en tiempo, constantemente es cambiante debido a los procesos externos e internos y estando influenciada por la interacción con partículas del ambiente donde se desarrolle, por ejemplo como ocurre en el cuerpo humano, donde los eritrocitos y la fibrina se pueden acumular en el interior de las biopelículas.³

De la misma manera, la estructura final resultante va a estar influenciada por determinadas condiciones como las propiedades de la superficie y la interfase, la disponibilidad de nutrientes, la composición microbiana de la población y la hidrodinámica.⁹

Metabolismo Microbiano en las Biopelículas

Las células creciendo en biopelículas pueden ser diferenciadas de su contraparte planctónica por la producción de una matriz de polímeros extracelulares, una tasa de crecimiento disminuida, y una regulación de genes específicos.³

Los habitantes de las biopelículas son heterogéneos ya que los microorganismos contenidos en el interior de las mismas pueden ser multi-especies o incluso multi-reinos, como por ejemplo aquellos involucrados en la caries dental; o ser de una

especie como los involucrados en la endocarditis bacteriana. Incluso, en aquellas biopelículas formadas por una especie, su expresión genética es heterogénea, debido a la difusión limitada impartida por la biopelícula, que resulta en variaciones locales de pH, nutrientes, disponibilidad de oxígeno y concentración de metabolitos bacterianos.¹

Estas variaciones locales crean microambientes a los cuales los microorganismos deben adaptarse para optimizar sus propiedades fenotípicas para ese ambiente en particular, difiriendo fenotípicamente de su contraparte planctónica incluso, es probable que en una biopelícula en particular, se abrigue un número de fenotipos diferentes de una misma bacteria.^{11, 13}

No obstante, no se ha probado que la heterogeneidad de la biopelícula resulte en una división de las labores y que esto incremente la eficiencia metabólica de la población como un todo, sin embargo, el desarrollo de estos agregados de microorganismos es un proceso complejo que requiere del comportamiento colectivo de sus habitantes.^{1, 9}

Esta división de labores, es regulada a través de las comunicaciones intercelulares, que permiten el reconocimiento entre células y el intercambio de metabolitos, genes y diversas moléculas.^{1, 19}

Los miembros de estas comunidades mixtas tienen diferentes requerimientos y realizan diferentes funciones metabólicas pudiendo hacer del comensalismo un fenómeno generalizado en las biopelículas, por ejemplo, mientras los colonizadores tempranos de la cavidad oral son aerobios o anaerobios facultativos, la difusión limitada de oxígeno provee un nicho ambiental para la posterior colonización de los anaerobios obligados.¹

La vitalidad de los microorganismos también varía a través de la biopelícula, con las bacterias más viables forrando los canales. Estos canales de agua proveen una oportunidad de cooperación metabólica a través del intercambio de nutrientes y metabolitos, mejorando la disponibilidad de los mismos y la remoción de aquellos potencialmente tóxicos.^{9, 13}

A través del trabajo cooperativo, los microorganismos alcanzan ganancias individuales, ya que pueden ocurrir interacciones beneficiosas a través de la excreción de metabolitos por parte de un organismo, que posteriormente puede ser usado como nutriente por otro diferente; o a través de la ruptura de un sustrato determinado por la actividad enzimática extracelular de un patógeno, lo que va a crear una disponibilidad biológica de sustratos para diferentes organismos.^{9, 14, 19}

El comportamiento comunitario de los habitantes de la biopelícula puede incrementar la producción total, y es mucho más eficiente cuando la bacteria existe en pequeños grupos; tal vez explicando la formación de microcolonias característica de la biopelícula.¹

En este mismo orden de ideas se ha reportado que un proceso similar a la apoptosis o muerte celular programada ocurre en las bacterias; sugiriendo que la muerte celular programada puede ocurrir dentro de las biopelículas. Este comportamiento conlleva a la reducción de la carga metabólica e incrementa la disponibilidad de nutrientes para los sobrevivientes.¹

De acuerdo a lo señalado anteriormente, los microorganismos responden a las condiciones ambientales mediante la adaptación de su expresión genética por sus propias necesidades de supervivencia, por lo que es mucho más preciso referirse a las biopelículas como comunidades interactivas.¹

Mecanismos de Resistencia en las Biopelículas

La producción de una enfermedad por parte de un microorganismo, requiere de la expresión temporal y coordinada de una serie de genes que le permiten al patógeno adaptarse al ambiente hostil que representa el hospedero. A través de la expresión de estos genes, se codifican productos frecuentemente denominados factores de virulencia, los cuales van a contribuir en su habilidad para sobrevivir, crecer y propagarse en el sitio de la infección. La producción de sus factores de virulencia va a estar controlada por el sistema de quórum sensing.^{17, 2}

La infección exitosa por parte de un microorganismo incluye una cadena de eventos en los cuales los patógenos deben adherirse y/o romper las barreras físicas del organismo, evadir los fagocitos y la respuesta inmune, crecer bajo condiciones donde los nutrientes son limitados y combatir en conjunto el ambiente hostil. Es por esta razón que la formación de biopelículas tiene particular relevancia clínica no sólo debido a la supresión de las defensas del hospedero, sino también a los esfuerzos terapéuticos para erradicarlos; incluyendo las medidas químicas y mecánicas de tratamiento.^{13, 26}

La habilidad de persistir por parte de los microorganismos en un medio inhóspito a través de la formación de biopelículas, se debe a su versatilidad metabólica y su plasticidad fenotípica. Ciertas bacterias pueden evolucionar y transcribir los genes requeridos para la síntesis de exopolisacáridos en respuesta a determinados estímulos ambientales que son encontrados al entrar en el hospedero, incluso antes de que el sistema inmune ataque específicamente.^{1, 9}

La biopelícula proporciona resistencia a sus habitantes, por ejemplo, los patógenos viviendo en estos agregados microbianos, resisten las fuerzas físicas, como aquellas fuerzas de corte producidas por el flujo de sangre o por la acción de limpieza de la saliva. De igual manera, pueden soportar privaciones de nutrientes, cambios de pH y radicales de oxígeno mejor que los organismos planctónicos; además de resistir a la fagocitosis; incluso, estos fagocitos que intentan atacar, pueden causar más daño sobre los tejidos circundantes que a la biopelícula como tal.^{1, 6}

Sin embargo, el principal problema con la biopelícula es su conocida resistencia a los antimicrobianos. En este sentido, Lewis definió la resistencia como la habilidad que tiene un microorganismo de crecer en la presencia de un nivel elevado de antimicrobiano; incluyendo en este término a los antibióticos, desinfectantes y germicidas.^{2, 7}

En este sentido, se ha señalado que la concentración necesaria de un agente antimicrobiano para matar a microorganismos planctónicos, debe ser aumentada

de 10 a 1000 veces para tener la misma eficacia sobre los microorganismos dentro de la biopelícula.^{7,2}

Agravando aún más la situación, estas organizaciones microbianas proveen un nicho ideal para el intercambio de ADN extracromosomal (plásmidos), permitiéndole el trueque de determinantes para la resistencia antibiótica. El mecanismo utilizado para la transferencia de plásmidos es la conjugación, la cual ocurre en una frecuencia mucho mayor entre células creciendo en biopelículas que entre células planctónicas, debido a las mínimas fuerzas de corte y la gran cercanía entre las células.^{1,3}

La característica que mejor distingue las infecciones crónicas relacionadas con biopelículas es su respuesta a los tratamientos antibióticos. Mientras que las infecciones agudas pueden ser eliminadas tras un breve tratamiento antibiótico, las infecciones por biopelículas normalmente no consiguen ser completamente eliminadas y producen episodios recurrentes, siendo menos susceptibles a los antimicrobianos y más resistentes a los mecanismos de defensa.¹¹

Si bien las bases de la resistencia de los microorganismos que habitan en biopelículas se están aún investigando, entre las razones discutidas se incluyen:

1.- La barrera de difusión física y química a la penetración de los antimicrobianos que constituye la matriz de exopolisacáridos, retardando o disminuyendo la penetración dentro de la biopelícula.^{1,2,6,7}

Las moléculas de los antimicrobianos deben difundir a través de la matriz de la biopelícula para inactivar o eliminar a las células encajonadas. Los polímeros extracelulares que constituyen ésta matriz, representan una barrera para la difusión de las moléculas a través de dos procesos; influenciando el índice de transporte de las moléculas al interior de la biopelícula o debido a la reacción del agente antimicrobiano con la matriz.²

Esta característica depende de la naturaleza de ambos, del antimicrobiano y de los polisacáridos extracelulares, así como de la interacción con la matriz, la concentración terapéutica del antimicrobiano y de la tasa de crecimiento de la microcolonia en relación con la tasa de difusión del antibiótico.^{7,9}

Esto provee una resistencia efectiva contra moléculas de gran tamaño como antimicrobianos (proteínas) y complemento, y probablemente también contra moléculas pequeñas como ciertos antimicrobianos (péptidos) y numerosas defensinas y sus análogos.²

Los polisacáridos extracelulares al tener carga negativa son muy efectivos en proteger a las células de los antibióticos aminoglucósidos que son de carga positiva, restringiendo su penetración, posiblemente al unirse entre ellos. En el caso de las moléculas antimicrobianas pequeñas, la matriz de polisacáridos solo pospondría la muerte de la célula más que proporcionar una protección útil, como por ejemplo el caso de las fluoroquinolonas.⁷

Sin embargo hay un sinergismo entre difusión, retardo y degradación del antimicrobiano. La difusión restringida puede proteger a la biopelícula de un antimicrobiano degradable; en tanto que la difusión retardada disminuye la concentración de antimicrobiano que penetra, facilitando que enzimas como las B-lactamasas destruyan el antibiótico entrante. Por estas razones es de esperar que las células que habitan en biopelículas sean capaces de crecer en la presencia de antimicrobianos.^{2,7}

También se ha señalado que los polisacáridos extracelulares no solo protegen a la célula contra la penetración del antimicrobiano, sino también de radiación UV, cambios de pH, células blancas, protozoarios, cambios osmóticos y de desecación.^{6,7,9,2}

A pesar de que la gran mayoría de los autores coinciden en que los polisacáridos brindan protección a las células dentro de la biopelícula, Sutherland señala que este es un aspecto en el cual es imposible realizar cualquier generalización. Si bien existen ciertos reportes de que los exopolisacaridos interactúan con los agentes antimicrobianos y protegen a las células, bien sea evitando el acceso del componente o por reducir efectivamente su concentración, sus efectos protectores son probablemente limitados, más bien referidos al mantenimiento de una capa altamente hidratada alrededor de la biopelícula, evitando de esta manera la desecación letal y variaciones de la humedad.²¹

El crecimiento lento de los microorganismos dentro de la biopelícula debido a la limitación de nutrientes.^{1, 2, 7}

Aquellas células que se encuentren en las capas más profundas de la biopelícula, tienen menos acceso a los nutrientes y por lo tanto su crecimiento será más lento.
7

Virtualmente todos los antimicrobianos son más efectivos en matar rápidamente células en crecimiento, por ejemplo, las penicilinas y ampicilina no actúan sobre células que no estén en crecimiento y la tasa de muerte de microorganismos es proporcional a la tasa de crecimiento. Algunos de los más avanzados - lactámicos como céfalosporinas, aminoglucósidos y fluoroquinolonas pueden matar a células que no estén en crecimiento, pero incluso así, siguen siendo mucho más efectivos en eliminar rápidamente células que están en crecimiento.²

Por esta razón indudablemente el crecimiento lento contribuye a la resistencia de la biopelícula y es el principal factor en el incremento de la resistencia en comparación con las bacterias planctónicas.²

3.- La existencia de microambientes que antagonizan con la acción del antibiótico.
10

4.- La activación de respuestas de estrés que provocan cambios en la fisiología de la bacteria y la aparición de un fenotipo específico de la biopelícula.^{1, 2, 6, 7}

La plasticidad en estructura y fisiología de las células bacterianas, les permite realizar rápidos cambios fenotípicos, no solo en respuesta a su estatus nutricional y tasa de crecimiento, sino también a cambios en la temperatura, pH y a la exposición de concentraciones subefectivas de antibióticos.⁷

Esta respuesta incluye cambios en una amplia variedad de componentes celulares (incluyendo proteínas, ácidos grasos y fosfolípidos asociados con la pared celular) y la producción de enzimas y polisacáridos extracelulares. Los microorganismos en biopelículas podrían no expresar el sitio de unión a la droga o usar una vía de metabolismo distinta a la bacteria planctónica.^{7, 13}

La presencia de concentraciones sub-inhedorias del agente antibiótico dentro de la biopelícula, provee presiones selectivas para el desarrollo de fenotipos más resistentes y para la selección y expresión de plásmidos de resistencia. Estas concentraciones inefectivas de antibiótico, además de poder ser generadas por la poca penetración del mismo a través de la matriz, también pueden ser causadas por una disminución en la susceptibilidad de la pared celular.⁷

5.- Producción de células persistentes.

La mayoría de las células en la biopelícula, no son necesariamente más resistentes a los antimicrobianos que las células planctónicas y, pueden morir rápidamente cuando son tratadas con antibióticos bactericidas que atacan a células que crecen lentamente.⁷

Las células persistentes sobreviven al antimicrobiano, y son de hecho, mantenidas por la presencia del mismo que inhibe su crecimiento; es decir, paradójicamente, el medicamento ayuda a la perseverancia de éstas células persistentes.⁷

Existe la posibilidad de que las biopelículas produzcan más células persistentes que las poblaciones planctónicas, sin embargo, éste no parece ser el factor principal en la mejor supervivencia de células cuando se compara con células planctónicas en vivo.^{2,7}

La presencia de las células persistentes, puede explicar la necesidad de terapias combinadas con drogas no relacionadas que juntas probablemente las erradicarían. La aplicación de antibióticos bactericidas erradicaría la mayor parte de la población, dejando solo pequeñas fracciones de sobrevivientes persistentes. Si la concentración del antibiótico temporalmente disminuye, o si los síntomas desaparecen debido a la erradicación de las células planctónicas, y la terapia es discontinuada, las células persistentes se reorganizan en biopelículas, la cual comienza a liberar nuevas células planctónicas. Esta dinámica explica las recaídas en las infecciones por biopelículas y la necesidad de una terapia antibiótica larga.²

Es importante considerar que cualquier agregado de células que potencialmente puedan restringir el acceso a las defensas del hospedero y que produzca al menos

algunas células persistentes, pueden ser vistos como un modelo de infección recalcitrante.^{6,9}

La terapia antibiótica estándar es solo capaz de eliminar las células planctónicas, dejando las formas resistentes que se propagan en el interior de la biopelícula y continúan la diseminación cuando la terapia es terminada. Además, estas infecciones son difícilmente resueltas por el sistema inmune, ya que los microorganismos dentro de la biopelícula liberan antígenos y estimulan la producción de anticuerpos.^{6,9}

Esta respuesta inmune puede incluso causar daño en los tejidos vecinos debido a que los anticuerpos no pueden penetrar dentro de la biopelícula para resolver la infección, sino que se forman complejos inmunes en la superficie de la misma.^{6,9}

El proceso exacto por el cual los organismos asociados a biopelículas producen enfermedad en el hospedero, son pobremente comprendidos sin embargo los mecanismos propuestos, incluyen separación de células o agregados de la biopelícula, lo cual puede resultar en una infección del sistema circulatorio o del tracto urinario o en la producción de un émbolo. Las células se pueden separar individualmente de la biopelícula como resultado del crecimiento y división celular o separarse en agregados o racimos. Un incremento en las fuerzas de corte debido a cambios en el flujo del ambiente circundante, resultará en un incremento en la erosión de células de la biopelícula.^{2,3}

Las células pueden intercambiar plásmidos de resistencia dentro de las biopelículas, además las células que viven en agregados microbianos tienen marcadamente disminuida su susceptibilidad a los agentes antimicrobianos.^{2,3}

Las biopelículas asociadas a bacterias Gram negativas pueden producir endotoxinas, desencadenando una respuesta inmune en el hospedero, estas son resistentes a la remoción por parte del sistema inmune del hospedero.^{2,3,6}

A pesar de que las biopelículas presentan una resistencia intrínseca a los antimicrobianos, existe un gran avance en las investigaciones del tratamiento de estas infecciones, ya que el descubrimiento de que un amplio número de organismos utilizan el quórum sensing para controlar la producción de sus factores

de virulencia, ha hecho que este proceso sea un blanco atractivo para la terapia antimicrobiana; por lo tanto, al bloquear estas comunicaciones entre células, los organismos patógenos podrían volverse no patógenos al no poder desarrollar sus factores de virulencia ^{1, 17, 27}

2. LA CARIES DENTAL

CONCEPTO

La Organización mundial de la Salud, la (OMS) ha definido la caries dental, como un proceso localizado de origen multifactorial, que inicia después de la erupción dentaria, determinando el reblandecimiento del tejido duro del diente y evoluciona, hasta la formación de una cavidad.¹

Se considera que la caries dental es la enfermedad infecciosa más habitual en los niños (de 5 a 8 veces más que el asma), con un 8,4% de niños afectados menores de doce años y un 40,4% a los 5 años. De esos casos, un 47% de los niños entre dos y doce años nunca recibe tratamiento, la caries en los dientes deciduos, es uno de los motivos principales de hospitalización en niños y tiene un elevado costo sanitario.^{3,7}

La caries dental es una de las enfermedades infecciosas de mayor prevalencia en el hombre y aunque algunos estudios en la pasada década han indicado reducción en la prevalencia de la caries dental en algunos países del mundo, esta enfermedad continua manteniéndose como uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial.²

La caries dental ha sido definida como la destrucción localizada de los tejidos duros del diente, por la acción bacteriana, donde dichos tejidos son modificados y eventualmente disueltos, otros autores la definen como la descomposición molecular, de los tejidos duros del diente que involucra un proceso de histoquímica bacteriano, el cual termina con la descalcificación y disolución progresiva de los materiales inorgánicos y desintegración de su matriz orgánica.^{2,4}



Figura 8: destrucción dentaria, por múltiples lesiones cariosas

Aquellas áreas de los dientes que no estén protegidas por la autolimpieza, tales como foseetas, fisuras y puntos de contacto, son más susceptibles a presentar caries dental que aquellas expuestas a la autolimpieza, tales como superficies bucales y linguales.¹⁵

La formación de cavidades cariosas comienza como pequeñas áreas de desmineralización en la superficie del esmalte, progresando a través de la dentina y hasta llegar a la pulpa dental. La desmineralización es provocada por ácidos, en particular ácido láctico, producido por microorganismos bucales, que fermentan los carbohidratos de la dieta. La formación de la lesión involucra la disolución del esmalte y la remoción de los iones de calcio y fosfato, así como el transporte hacia el medio ambiente circundante. Esta etapa inicial es reversible y la remineralización puede ocurrir particularmente con la presencia de fluoruros.¹⁰

La caries aparece en los dientes como manchas blancas, depósitos de placa o sarro marrón, y puede llegar a causar pequeñas fracturas o cavidades. La destrucción del diente se extiende propagándose al diente definitivo que aún se encuentra escondido. Una vez empieza, es cuestión de tiempo que se extienda y ataque a toda la dentición.¹⁶

ETIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL

Existen numerosas evidencias que han permitido demostrar que la placa dental es un prerequisite indispensable para la iniciación de la caries dental y la enfermedad periodontal en niños de educación primaria, siendo esta comunidad más susceptible, debido a su mala higiene.⁹



Figura 9. ejemplo de molestia dental causada por caries.

El grado de la cariogenicidad, de la placa dental es dependiente de una serie de factores que incluyen:

La localización de la masa de microorganismos en zonas específicas del diente como en las superficies lisas, fosas y fisuras y superficies radiculares.

El gran número de microorganismos concentrados en áreas no accesibles a la higiene bucal o a la autolimpieza, principalmente en niños de educación primaria. La producción de gran variedad de ácidos (ácido láctico, acético, propiónico, etc.) capaces de disolver las sales cálcicas del diente.

La naturaleza gelatinosa de la placa favorece la retención de los compuestos formados en ella y disminuye la difusión de elementos neutralizantes hacia su interior.^{12,13}

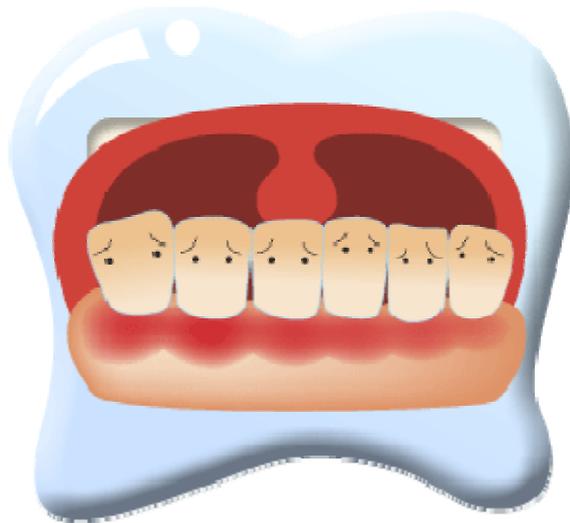


Figura 10. Ejemplo de una gingivitis por acumulación bacteriana.

La caries dental es una enfermedad multifactorial asociada a la interrelación de varios factores imprescindibles, para que se inicie la lesión. Dichos factores son el huésped, las bacterias y la dieta. Posteriormente fue adicionado un nuevo factor: el tiempo, que permitió esclarecer de una forma más precisa la formación de la caries dental.¹⁴

Como decíamos, para que se desarrolle la caries se necesita el factor tiempo, por lo que cuanta más edad tenga un niño, más probabilidades tendrá de presentar caries. No obstante, en la dentición temporal, puede desarrollarse un tipo de caries particularmente extensa, que afecta prácticamente a todos los incisivos y los

primeros molares, y que suele presentarse en niños que ingieren, durante largo tiempo carbohidratos simples, contenidos mayormente en golosinas.^{8,9}



Figura 11. Factores que influyen en el proceso cariogénico.

EVIDENCIAS DE QUE LA CARIES DENTAL ES UNA ENFERMEDAD INFECCIOSA CONTAGIOSA

Leber y Rottenstein en 1867 y Millar en 1890, dedujeron los principios fundamentales implicados en el desarrollo de la caries dental. En su famosa teoría química parasitaria, Millar sugiere que las bacterias bucales convierten los carbohidratos de la dieta en ácidos, que son capaces de solubilizar el fosfato de calcio del esmalte y producir la lesión cariosa.¹⁶

Experimentos iniciales demostraron que ratas libres de gérmenes eran capaces de desarrollar caries dental cuando se infectaban con bacterias. Las evidencias de la transmisibilidad de la caries dental provienen de estudios realizados en hámster. Animales libres de caries dental no desarrollaban la enfermedad aún cuando se les diera una dieta altamente cariogénica. Ello solo ocurría cuando estos animales eran puestos en contacto con animales que si presentaban caries dental.⁸

Posteriormente se comprobó que cuando los *Streptococcus* aislados de lesiones cariosas en ratas, eran inoculados en la cavidad bucal de animales libre de gérmenes, estos eran capaces de desarrollar la enfermedad. La importancia de la dieta comienza a tomarse en consideración, al observar que la colonización y producción de caries por muchos *Streptococcus* bucales ocurría solamente en presencia de sacarosa.¹

CAUSAS DE LA CARIES DENTAL

Los dientes están recubiertos de un esmalte especial que los protege de cualquier agresión externa. Cuando esta capa va desapareciendo progresivamente por su descalcificación, deja de protegerlos y permite a los gérmenes presentes en la boca que puedan atacarlos.¹⁵

El *Streptococcus Mutans* (o *S. Mutans*). Es considerado el principal agente etiológico de la caries dental en humanos y animales experimentales, esta bacteria se transmite mayormente por la salida por ejemplo: de la saliva de la madre o cuidadora al niño durante sus 30 primeros meses de vida y reside en la dentición, por lo que al menos el niño debe tener un diente para que se produzca la transmisión efectiva. La bacteria se alimenta de sucrosa y produce ácido como subproducto, degradando con ello el esmalte dentario.¹⁵

En 1996, científicos de la Universidad de Helsinki observaron que los niños sin caries, tenían niveles muy bajos de esta bacteria. En cambio, los niños con caries tenían concentraciones extremadamente altas, como unas 100 veces superiores.¹⁷ Antes de la aparición del primer diente, alrededor de la mitad de los niños de 6 meses ya están infectados con *Streptococcus Mutans*. Según una investigación, a los 24 meses de edad el 84% de los niños había desarrollado una colonia considerable. Los factores asociados a estos casos fueron la ingesta de bebidas dulces antes de dormir, tomar demasiados alimentos dulces, bocados entre comidas, compartir comida con adultos y una presencia muy alta de dichas bacterias en la madre. Por el contrario, la falta de bacterias se asoció básicamente con el cepillado habitual de los dientes.¹⁹

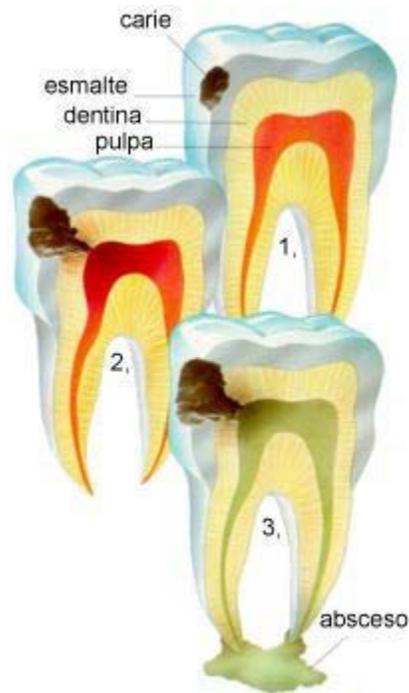


Figura 12. Esquema del proceso carioso

OTRAS CAUSAS QUE SE PUEDEN OBSERVAR

Varios factores pueden producir la caries dental. La principal causa es una alimentación rica en azúcares que ayudan a las bacterias a corroer el esmalte, aunque, dependiendo del tipo de azúcar, su incidencia varía. Otras causas son una mala higiene dental, la ausencia de flúor en el agua y la propia genética, que como se ha demostrado provoca la aparición de caries en algunos niños especialmente sensibles a pesar de seguir unos hábitos profilácticos correctos.¹⁸

Si bien la bacteria *S. Mutans* es la principal responsable de la caries, se han encontrado otros factores que también muestran una inesperada correlación con este problema: complicaciones durante el embarazo o el parto, nacimiento prematuro o por cesárea, diabetes materna, enfermedades renales, incompatibilidades del Rh, alergias, gastroenteritis frecuentes y diarrea crónica.

Además, una dieta rica en sal o baja en hierro y el uso de chupete parecen favorecer también la aparición de caries.¹⁷

La dieta

La verdad es que a pesar de que la alimentación es uno de los factores que más pesan en la aparición de la caries, puede haber gente con dietas desaconsejables que nunca la padezca; en cambio, otras personas pueden comer muy bien y tener graves problemas. Pero nunca está de más tener precauciones, así que un buen cepillado, evitar dulces y una dieta equilibrada es fundamental.¹⁸

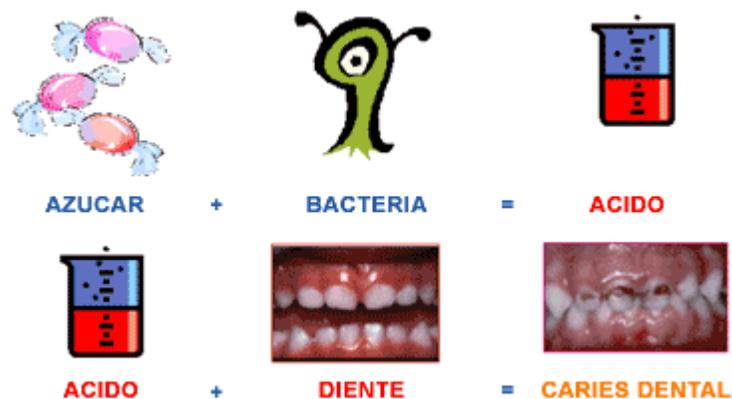


Figura 13. Proceso carioso, por una ingesta rica en carbohidratos

SÍNTOMAS DE LA CARIES DENTAL

Dolor en los dientes, sobre todo después de comer dulces y de tomar bebidas o alimentos fríos o calientes.

Orificios o cavidades visibles en los dientes

La mayoría de las caries son descubiertas en sus fases preliminares durante los controles de rutina. La superficie dental puede estar suave al hurgarla con un instrumento puntiagudo o comida. El dolor puede no presentarse hasta las etapas avanzadas de la caries dental. Las radiografías dentales pueden mostrar algunas caries antes de que sean visibles para el ojo.²⁰



Figura 14. Ejemplo de dolor dental agudo.

Las recomendaciones básicas se centran en aquellos casos en que las personas que están en contacto más estrecho con el niño tengan problemas de caries. Es básico que estas personas sigan una dieta equilibrada y tengan una buena higiene dental para disminuir considerablemente el riesgo de caries de niños en edad escolar primaria.²⁰

Una vez se ha diagnosticado caries en niños de primaria, el tratamiento debe ser para frenar su desarrollo y evitar la cirugía. Algunos dentistas recomiendan usar una minúscula cantidad de pasta de dientes fluorada, mientras que otros prefieren un cambio en la dieta. Consideran que la salud dental, de niños de entre 5 a 12 años de edad, empieza desde el momento de su fecundación, con lo que la dieta es fundamental.¹

Un estudio publicado en la revista Lancet informa de la relación existente entre la ingesta de plomo por parte de la madre y la incidencia de caries en sus hijos, y explica con ello el incremento de caries en niños que habitan en zonas industriales.

La vitamina D incrementa la absorción de calcio, por lo que ayuda a tratar la caries, pero es tóxica si se toma en grandes cantidades. En un estudio de 1996, se encontró que una combinación de vitamina D, C y calcio, mejoró la salud bucal de los niños.⁷

Como el flúor es una neurotoxina que inhibe la absorción de calcio, muchos médicos están en contra de tratamientos con flúor y prefieren un cambio de dieta (sin dulces y con vitaminas) e higiene dental.

Utilidad del Flúor

El flúor es una sustancia natural que refuerza el esmalte dental haciéndolo más resistente a la caries. También interfiere en el proceso en el que las bacterias metabolizan el azúcar para producir ácido, denominado *glicólisis*. Normalmente se presenta como pasta de dientes fluorada (usada por 450 millones de personas), sal (50 millones) o añadida al agua de beber (210 millones). La principal fuente de flúor natural se presenta en el agua de beber, aunque también en algunos lugares puede encontrarse en el aire y en ciertas plantas. Se ha demostrado que una proporción de 0,5 a 1,0 mg/litro reduce la aparición de la caries dental. Pero la ingesta excesiva puede causar fluorosis dental, que se caracteriza por la aparición de manchas, falta de brillo o cambio de color de la dentadura a amarillo o marrón.²¹

Impedir la desmineralización de los dientes, tan pronto como se detecta el problema, mediante un cambio en la dieta y la ingesta de flúor, puede repararlos pero no destruirá las bacterias. Para ello es primordial cepillarse o enjuagarse los dientes.²²

TRATAMIENTO DE LA CARIES DENTAL

Las estructuras dentales que han sido destruidas no se regeneran, sin embargo, el tratamiento puede detener el progreso de la caries dental con el fin de preservar el diente y evitar complicaciones.⁶



Figura 15. Ejemplo de estructuras dentales dañadas

En los dientes afectados, se elimina el material cariado con el uso de una fresa dental para reemplazarlo con un material reestructivo como las aleaciones de plata, oro, y resina compuesta. Este último material se asemeja a la apariencia natural del diente, por lo que suele preferirse en los dientes anteriores. Muchos odontólogos consideran las amalgamas o aleaciones de plata y de oro como más fuertes y suelen usarse en los dientes posteriores, aunque hay una fuerte tendencia a utilizar la resina compuesta para los dientes posteriores también.²²

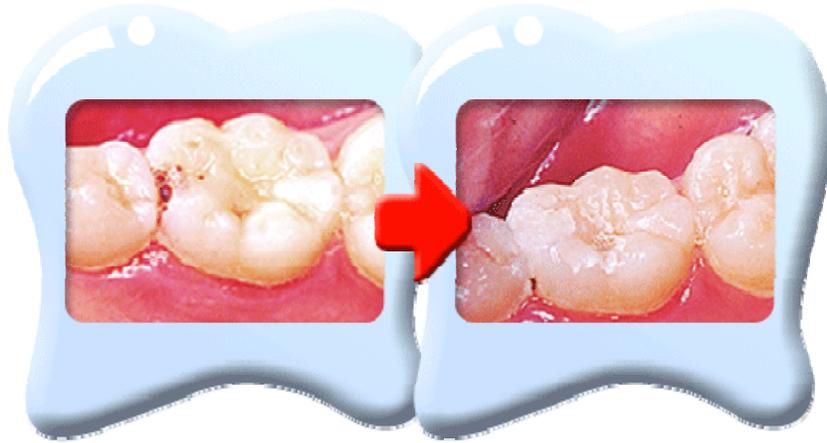


Figura 16. Ejemplo de restauración a base de composite,

Se recomienda hacer un tratamiento de conductos, en los casos en que ha muerto el nervio o pulpa del diente a consecuencia de un proceso criogénico o de un traumatismo por golpe. En este procedimiento, se elimina el centro del diente con la porción cariada, incluido el tejido nervioso (pulpa) y vascular (vasos sanguíneos), que en conjunto se conoce como paquete vasculonervioso. El diente al ser despulpado, en el área de las raíces, es obturado con un material biocompatible pero absorbible en el caso de dientes temporales, posteriormente se restaura colocando un material adecuado al procedimiento, en este caso una corona, por ser un material aislante y de carácter funcional en el proceso masticatorio.¹⁰

Las coronas se usan cuando la caries es muy grande y hay una estructura dental limitada, la cual puede ocasionar un diente debilitado. Las obturaciones grandes y la debilidad del diente aumentan el riesgo de ruptura del mismo. El área cariada o debilitada se elimina y se repara mediante la colocación de una cubierta (corona), sobre la parte del diente restante o muñón. Dichas coronas suelen estar hechas de acero cromo, oro o resina.⁵



Figura 17. Imagen de una corona de acero cromo, usada en dientes deciduos

Debe ser diagnosticada por el estomatólogo, Inicialmente la lesión se manifiesta como un cambio de color (oscuro o blanquecino) en el esmalte del diente. Cuando la lesión progresa, aparece pérdida de sustancia y desmineralización del esmalte, lo cual da un aspecto de mancha grisácea. Finalmente, el esmalte se rompe y la lesión se hace fácilmente detectable.¹²

Cuando la caries afecta sólo al esmalte, no produce dolor. Si la lesión avanza y llega a la dentina, tejido interior del diente, es cuando aparece el dolor, que a veces es intenso y se desencadena al tomar bebidas frías o calientes. A medida que la infección progresa, se produce el paso a los tejidos blandos que rodean el diente, apareciendo un absceso que buscará salida hacia el exterior a través de la encía.

El tratamiento debe ser aplicado por el estomatólogo y se basa en tres puntos básicos:

El control de la infección.

La remineralización de los tejidos.

El tratamiento de las complicaciones.

Situaciones que requieren asistencia médica

Se debe acudir al odontólogo si se presenta dolor en el diente.

Se debe acudir al odontólogo para el examen y limpieza de rutina cuando han pasado de 6 meses a un año desde la última visita.¹⁰

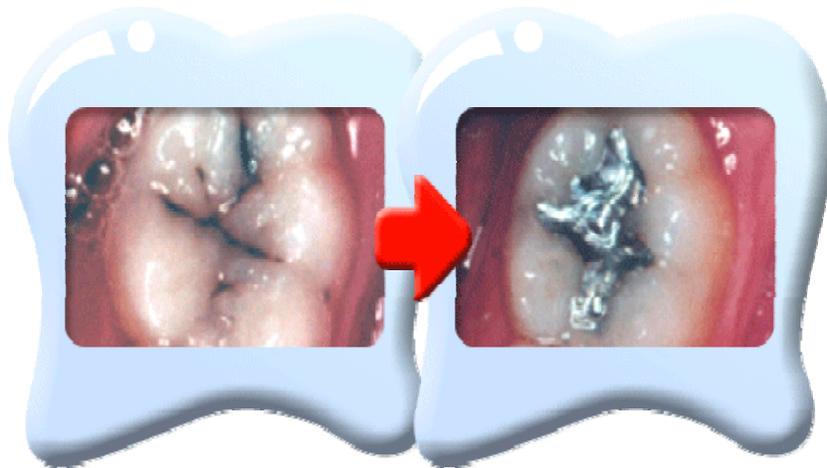


Figura 18. Restauración con amalgama

PREVENCIÓN DE LA CARIES DENTAL

La higiene oral es necesaria para prevenir las caries y consiste en la limpieza regular profesional (cada 6 meses), cepillarse por lo menos dos veces al día y usar la seda dental al menos una vez al día. Se recomienda tomarse unos rayos X selectivos cada año para detectar posible desarrollo de caries en áreas de alto riesgo en la boca.⁹

Los alimentos masticables y pegajosos, como frutas secas y caramelos, conviene comerlos como parte de una comida y no como refrigerio; y de ser posible, la

persona debe cepillarse los dientes o enjuagarse la boca con agua luego de ingerir estos alimentos. Se deben minimizar los refrigerios que generan un suministro continuo de ácidos en la boca; además, se debe evitar el consumo de bebidas azucaradas o chupar caramelos y mentas de forma constante.³

Existen diversas medidas preventivas. En cualquier caso, conviene tener presente que el mejor tratamiento es la prevención, y que ésta debe empezar a aplicarse desde los primeros meses de vida de los niños.

Medidas dietéticas. Tienen como misión disminuir la materia prima (azúcares) sobre la que actúan las bacterias, para lo cual se debe disminuir la frecuencia de exposición a azúcares, en lugar de reducir la cantidad total de los mismos.



Figura 19. Técnica de cepillado

Higiene dental. Los padres han de asumir la responsabilidad de la higiene bucal hasta que el niño adquiera suficiente destreza.¹⁰

El cepillado dental, debe iniciarse tan pronto como aparezcan los primeros dientes. Se utilizará un cepillo dental apropiado para niños y se seguirá una técnica correcta.

Cambiar de cepillo dental cada tres meses.

Cepillarse los dientes como mínimo tres veces al día.

Asistir a campañas de prevención de caries, en centros médicos autorizados.

Usar pasta dental que tenga 1500 partes por millón de flúor y 550 partes por millón en niños menores de 6 años, por la tendencia a tragarla.

Evitar alimentos ricos en carbohidratos.

Usar el cepillo dental correctamente con una técnica adecuada.

Visitar al estomatólogo por lo menos dos veces al año.

El hilo dental, es útil para eliminar la placa interdental.



Figura 20. Técnica de cepillado

Fluoración, es la medida más eficaz en la lucha contra la caries. Se suele recomendar el fluoruro en la protección contra la caries dental, pues está demostrado que las personas que ingieren fluoruro, tienen menos caries. El fluoruro, cuando se ingiere durante el desarrollo de los dientes, se incorpora a estructuras del esmalte y lo protege, contra la acción de los ácidos; El flúor se almacena en los dientes desde antes de su erupción y aumenta la resistencia del esmalte, remineraliza las lesiones incipientes y contrarresta la acción de los microorganismos responsables de la caries.^{2, 3, 9}

El uso de resinas y selladores dentales aplicados por profesionales, son la medida más eficaz para evitar las caries dental, de fosetas y fisuras, los selladores, se aplican sobre las superficies de masticación de los dientes llamados molares, previniendo la acumulación de placa en los surcos profundos de estas superficies vulnerables, además de los selladores aplicados en las superficies de oclusión, aquí podemos incluir también las fluoraciones aplicadas en las consultas con el estomatólogo. Los selladores suelen aplicarse a los dientes de los niños, poco después de la erupción de los molares; Las personas mayores también pueden beneficiarse con el uso de los selladores dentales, siempre y cuando las superficies dentales de oclusión no presenten proceso carioso.^{4, 11}

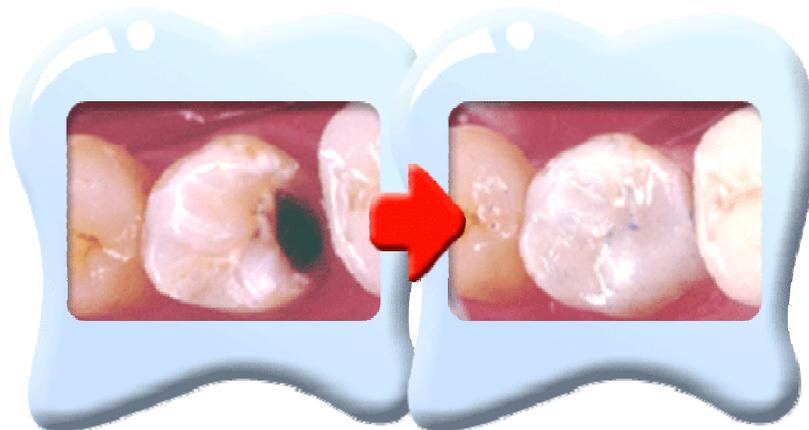


Figura 21. Ejemplo de restauración a base de resina

RECOMENDACIONES

Promover campañas de divulgación referente a cultura sanitaria bucal, no sólo a informar sobre la existencia del Servicio estomatológico, sino a orientar a la comunidad para que las personas acudan al Servicio al menos una vez al año, aumentando la cultura sanitaria bucal.^{2, 3}



Figura 22. Charla educativa sobre la prevención de caries

Establecer la atención estomatológica en primarias, con carácter obligatorio incorporando a la planificación de los servicios de estomatología al consejo de salud de la comunidad, a los maestros junto con los padres y representantes para fomentar y divulgar los servicios del área, incluyendo en el programa docente, a nivel educación primaria, temas de salud que bien pudieran complementarse con la participación del personal medico en el área, instituyendo la prevención con Fluoruro a centros educativos y a los pacientes, promoviendo la ingesta de alimentos ricos en fibra (manzana, zanahorias, etc.).^{2, 3, 4}

En niños de primaria con edades de entre 5 a 12 años, evitar alimentos que se adhieran a los dientes (chicles, caramelos blandos, etc.), por su permanencia prolongada en las superficies masticatorias, evitar el uso de azúcar, utilizando en su lugar, xilitol y sorbitol que desarrollan una flora bacteriana con menor capacidad de producir caries.^{13, 17}

En los lactantes, evitar el contacto prolongado de los dientes con la tetina de los biberones (no más de 15-20 minutos por toma). Evitar biberones nocturnos o en la siesta, no endulzar chupones con miel o con azúcar, ni ofrecer zumos de frutas en biberón.^{13, 17}



Figura 23. Cuidado de la salud en la edad adulta

CONCLUSIONES

Al revisar la evolución de la biopelícula, queda claro que, representa un sistema biológico con un elevado nivel de organización, donde los microorganismos forman comunidades estructuradas, coordinadas y funcionales, más resistentes a los mecanismos de defensa del hospedero y menos susceptibles a los agentes antimicrobianos, siendo de gran relevancia a los esfuerzos terapéuticos, que deben ser realizados para erradicarlas.

Los dientes están recubiertos por esmalte que los protege de cualquier agresión externa, el cual va desapareciendo por la descalcificación progresiva debido a la ingesta y a la frecuencia de la misma; Cada vez que se ingieren carbohidratos fermentables, el pH se acidifica, los carbohidratos se combinan con bacterias normalmente presentes en la boca, formando ácidos como subproducto, estos ácidos causan que el pH que reacciona con las bacterias, desmineralicé los dientes.

La biopelícula ayuda a proteger los órganos dentarios contra el ácido que puede causar desmineralización, pero es una superficie preferida por las bacterias y otros microorganismos que la colonizan. Por lo tanto se demuestra que la biopelícula, no ayuda a la prevención de enfermedades infecciosas cariogénicas, sino que interactúa con microorganismos, que al colonizarla son precursores de esta enfermedad, estando asociada a nuestra comunidad infantil, principalmente en niños de educación primaria, los cuales son más susceptibles, por ser un grupo muy poco instruido en su higiene oral.

Concluimos, en que promoviendo una adecuada educación para la salud, usando métodos preventivos y una correcta instrucción en la higiene oral, lograra una sociedad con menos problemas, no solo de caries, sino de diversas enfermedades infecciosas, provocadas por la biopelícula, que puede terminar con la pérdida de los órganos dentarios y un deterioro progresivo de la salud, en la edad adulta.

Referencias Bibliográficas.

1. Jefferson K. ***What drives bacteria to produce a biofilm.*** Microbiology letters 2004, (236):163-73.
2. Donlan R, Costerton W. ***Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms.*** Clinical Microbiology Reviews 2002, 15(2):167-93.
3. Donlan R. ***Biofilms: Microbial Life on Surfaces.*** Emerg Infect Dis. 2002, 8(9):881-90.
4. Costerton, J. W., G. G. Geesey, and G. K. Cheng. ***How bacteria stick.*** Sci. Am, 1978, 238:86-95. Comment in: Clinical Microbiology Reviews 2002, 15(2):167-93.
5. Marshall, K. ***Interfaces in microbial ecology.*** Harvard University Press, Cambridge, Mass, 1976:44-47. Comment in: Clinical Microbiology Reviews 2002, 15(2):167-93.
6. Costerton J, Cheng G, Geesey T, Ladd J, Nickel M, Dasgupta M, Marrie T. ***Bacterial biofilms in nature and disease.*** Annu. Rev. Microbiol, 1987, 41:435-64.
7. Gilbert P, Das J, Foley I. ***Biofilms susceptibility to antimicrobials.*** Adv. Dent. Res, 1997, 11:160-67.
8. Costerton J, Lewandowski Z, Caldwell D, Korber D, Lappin-Scott H. ***Microbial biofilms.*** Annu. Rev. Microbiol, 1995, 49:711-45. Comment in: Clinical Microbiology Reviews 2002, 15(2):167-93.
9. Davey M, O'toole G. ***Microbial biofilms: from Ecology to Molecular Genetics.*** Microbiol Mol Biol Rev, 2000, 64(4):847-67.
10. Lasa I, Del Pozo J, Penaldes J, Leiva J. ***Bacterial biofilms and infection.*** An Sist Sanit Navar, 2005, 28(2):163-75.

11. Scheie A, Petersen F. **The biofilm concept: consequences for future prophylaxis of oral disease?**. Crit Rev Oral Biol Med, 2004, 15(1):4-12.
12. Bowden G, Li Y. **Nutritional Influences on Biofilm Development**. Adv Dent Res, 1997, 11(1):81-99.
13. Jan Lindhe” **PERIODONTOLOGÍA CLÍNICA**. “segunda edición. Editorial medica Panamericana.
14. Wimpenny J, Manz W, Szewzyk U. **Heterogeneity in Biofilms**. FEMS Microbiology Reviews, 2000, (24):661-71.
15. Saul Schluger Palph A. Yuodelis, Roy C. **ENFERMEDAD PERIODONTAL**. Ed. Continental, segunda edición. 1982.
16. Siguard. P. Ramfjord; **PERIODONTOLOGÍA Y PERIODONCÍA**. Ed. Panamericana 1982.
17. Kiroshita Shiro. **“ATLAS DE COLOR DE PERIODONCIA.”** Barcelona España. ED. Espaxs; publicaciones Médicas.
18. de Kievit T, Iglewski B. **Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships**. Infect Immun, 2000, 68:4839&endash; 49.
19. Kolenbrander P, Andersen R, Blehert D, Eglund P, Foste J, Palmer R. **Communication among Oral Bacteria**. Microbiol Mol Biol Rev, 2002, 66(3):486-505.
20. Caldwell D, Atuku E, Wilkie D, Wivcharuk K, Karthikeyan S, Korber D, Schmid D, Wolfaardt G. Germ **Theory vs. Community** Theory in Understanding and Controlling the Proliferation of Biofilm. Adv Dent. Res, 1997, 11(1):4-13.
21. Sutherland I. **Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework**. Microbiology, 2001, 147:3&endash;9.
22. Glickman. **PERIODONTOLOGÍA CLÍNICA**. Quinta edición; editorial INTERAMERICANA.

23. Carlsson J. ***Bacterial Metabolism in Dental Biofilm.*** Adv Dent. Res, 1997.
11(1):75-80.