



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE ***ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO
MUTANS EN PLACA*** BACTERIANA CARIES DENTAL Y SALIVA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

PRESENTA:
ANGELICA ANAHI CORTEZ GALLARDO

ASESOR: M. en C. ANDREA ANGELA BECERRIL OSNAYA

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

2013



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE ***ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO
MUTANS*** EN PLACA BACTERIANA CARIES DENTAL Y SALIVA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

PRESENTA:
ANGELICA ANAHI CORTEZ GALLARDO

ASESOR: M. en C. ANDREA ANGELA BECERRIL OSNAYA

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

2013

AGRADECIMIENTOS:

A todas aquellas personas que con su motivación, ayuda, conocimiento colaboraron con una idea, palabra de aliento o simplemente una sonrisa para olvidar cuán difícil pueden ser las cosas en algún momento. Gracias por qué este logro no pudo ser posible sin su participación.

DEDICATORIAS:

A mis padres por la oportunidad de poder desarrollarme profesionalmente y tener una herramienta para colaborar en la sociedad.

A mi hermano que me motiva poder guiarlo.

Esposo e hija por su apoyo incondicional.

“¡Oh, no permitas que se extinga la llama. La cual ha sido mantenida por generación tras generación en su oscura caverna y en sus templos sagrados. Alimentada por sacerdotes puros de amor que no dejan extinguirse la llama!” ... Kybalión

		Página
	INDICE GENERAL	
	INDICE DE IMAGENES	
1.	JUSTIFICACION	8
2.	OBJETIVOS	9
2.1	Objetivo General	9
2.2	Objetivos Particulares	9
3.	GENERALIDADES	10
3.1	Definición y tipos de caries	10
3.2	Fisiopatología de la caries dental	11
3.2.1	Iniciación del proceso	11
3.3	Etiología de la caries	12
3.3.1	Factores del hospedador	13
3.3.2	Factores del sustrato (dieta)	14
3.4	Ecología de la cavidad oral	14
3.5	Formación de la película adquirida	16
3.5.1	Placa y su relación con la caries	19
3.6	<i>Streptococos del grupo mutans</i>	19
3.6.1	Características estructurales y antigénicas	20
3.6.2	Metabolismo de la sacarosa	22
3.6.3	Producción de ácidos	22
3.6.4	Transporte y entrada en la célula bacteriana	23
3.6.4.1	Síntesis de polisacáridos extracelulares	25
3.6.4.2	Síntesis de polisacáridos intracelulares	25
3.6.4.2.1	La importancia del metabolismo de los azúcares	25
3.7	Clasificación serológica y genética	26
4.	MATERIAL Y METODO	28
4.1	Selección de muestra	28
4.2	Exploración bucodental	28
4.3	Diagrama de flujo	28
4.4	Recolección y proceso de muestras	30
4.5	Características morfológicas y bioquímicas de <i>Streptococos del grupo mutans</i>	30
4.6	Tipificación serológica de los diferentes grupos de <i>Streptococos sp.</i>	31
4.6.1	Preparación de las muestras	31
4.6.2	Preparación de los extractos	31
4.6.3	Identificación del grupo de los extractos	32
4.6.4	Interpretación de los resultados	33
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34

6.	CONCLUSION	43
7.	BIBLIOGRAFIA	44
8.	ANEXO Y SUGERENCIAS	47
8.1	Medios de cultivo utilizados	47
8.2	Interpretación de pruebas bioquímicas	48
8.3	Sugerencia	49
8.4	Resumen descriptivo de los resultados	50

Figura		Página
1.1	Localizaciones más frecuentes de la caries	10
1.2	Progresión y clasificación de la caries 1. Oclusal 2. Proximal 3. Radicular	11
1.3	Esquema de colonización bacteriana	11
1.4	Esquema de claves: Interacción de los factores primarios de la etiología de la caries	12
1.5	Anatomía del diente	13
1.6	Mecanismos de adherencia bacteriana. Unión a través de adhesinas	17
1.7	Mecanismos de adherencia bacteriana. Unión por medio de puentes de calcio y Magnesio	17
1.8	Mecanismos de adherencia bacteriana. Unión por medio de polisacáridos extracelulares tipo Glucan y enzimas glucosiltransferasas	17
1.9	Mecanismos de adherencia bacteriana. Unión por fimbrias	18
2.0	Repetición de las fases 1 y 2. Adherencia de bacterias sobre una primera capa bacteriana ya establecida en la película. Mecanismos de coagregación	18
2.1	Esquema representativo del desarrollo de la placa dental	19
2.2	Cadenas de <i>Streptococcus sp.</i> en una tinción de Gram	20
2.3	Representación esquemática de la estructura de los <i>Streptococcus sp.</i>	21
2.4	Esquema de la producción de ácidos por los <i>Streptococcus del grupo mutans</i>	23
2.5	Representación esquemática del destino metabólico de la sacarosa en una variedad de cepas de <i>Streptococcus del grupo mutans.</i>	24
2.6	Colonias puras <i>Streptococcus del grupo mutans</i>	31
2.7	Reactivos de látex para la identificación del grupo <i>Streptococcus sp.</i> según la clasificación de Lancefield	32
2.8	Tarjeta de aglutinación	32
2.9 y 3.0	Kit de tipificación serológica del grupo <i>Streptococcus sp.</i> marca Bio-rad	32
3.1	Reacción negativa para <i>Streptococcus del grupo mutans.</i>	33
3.2	Grafica de la población estudiada por tipo de muestra	34
3.3	Colonias de <i>Streptococcus del grupo mutans</i> agar Todd-Hewitt	35
3.4	Pigmento generado por <i>Streptococcus del grupo mutans</i> 72	35

	hrs después de ser sembrado en Agar BHI	
3.5	Tinción de Gram de <i>Streptococos del grupo mutans</i> .	36
3.6	Resultados negativos de las pruebas: bilis esculina, arginina, cloruro de sodio 6.5% y urea.	36
3.7	Colonias de <i>Pseudomonas sp.</i> aisladas de muestras de caries en progresión	38
3.8	Representación grafica de la distribución de porcentaje de los microorganismos aislados	40

El presente trabajo tiene la finalidad de retomar la importancia que tiene *Streptococos del grupo mutans* en el proceso de la caries además de ser considerado como el iniciador de esta enfermedad. Esta bacteria pertenece a los anaerobios facultativos estrictos siendo difícil su aislamiento e identificación pues haciendo honor a su nombre puede cambiar su forma dependiendo del pH del medio tiene gran capacidad de adherirse a los dientes y soportar la acidez que se encuentre en su ambiente.

La falta de jerarquía que tiene la caries en la salud pública del país se debe a que no hay casos reportados de gente que muera por una caries u complicación de esta; pues se tiene acostumbrado a que si te duele una muela sacarla es lo más cómodo a modificar los hábitos de higiene y no es descuidada una persona sin dientes.

Actualmente las personas a edades muy cortas presenta problemas como la pérdida de sus piezas dentarias y sustituir a los dientes propios por una prótesis es mas practico. Hay que considerar estas eventualidades pues podrían causar una sátira pero que de cierto hay en la inversión que causa conseguir una dentadura nueva si tan solo se tuviera cuidado con cepillarse las veces indicadas y los cuidados necesarios para tener una boca saludable. Afecta a personas de cualquier edad, sexo y raza; teniendo una mayor presencia en sujetos de bajo nivel socioeconómico y en infantes.

Eh aquí el trabajo del químico farmacéutico biólogo pues no solo provoca enfermedades bucales sino también existen estudios aun no bien fundamentados de la presencia de este microorganismo en problemas cardiacos². Es así como, paralelo al desarrollo tecnológico de la industria farmacéutica, existe un gran interés por parte de los investigadores en estudiar sustancias que posean propiedades farmacológicas antibacterianas.

2.1 OBJETIVO GENERAL

Aislar e Identificar *Streptococos del grupo mutans* de muestras de caries, saliva, y placa bacteriana por medio de pruebas bioquímicas primarias, secundarias y adicionales (para observar la relación de esta bacteria como principal agente causal de caries).

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Obtener muestras de caries y placa bacteriana a partir de un ligero raspado en las superficies del diente o la posible extracción de este; en saliva solo recolectar con cuñas de metal estériles en voluntarios de diferentes edades y sexo, para el aislamiento del *Streptococos el grupo mutans*.

2. Identificación de *Streptococos del grupo mutans* mediante su morfología y pruebas bioquímicas para indicar la presencia de este microorganismo en la caries.

3. Comparación de crecimiento de la colonia seleccionada y pruebas bioquímicas con una cepa de referencia de *Streptococos del grupo mutans* ATCC 356668 para corroborar que se logro aislar la bacteria.

La caries dental es una enfermedad infecciosa de mayor prevalencia en el hombre, y aunque algunos estudios en la pasada década han indicado una significativa reducción en la prevalencia de este problema en algunos países del mundo, continúa manteniéndose como uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial.²⁹

3.1 Definición y tipos de caries

En la literatura científica ha sido enfocada bajo distintos aspectos. Quizá la más completa definición es la descomposición molecular de los tejidos duros del diente que involucra un proceso histoquímico y bacteriano, el cual termina con descalcificación y disolución progresiva de los materiales inorgánicos y desintegración de su matriz orgánica. Schuster, propone que en esta enfermedad los tejidos duros del diente son modificados y eventualmente disueltos.³⁰

Puede clasificarse con respecto al sitio de la lesión:

- a) Fosas y fisuras (aparece en molares, premolares y superficies palatina de incisivos superiores).
- b) Superficie lisa (en proximales y rara vez en vestibulares y linguales).
- c) Radicular (en cemento o dentina, depende si la raíz está expuesta al medio ambiente oral).
- d) Recurrente (aparece cuando se asocia a una restauración preexistente).²³

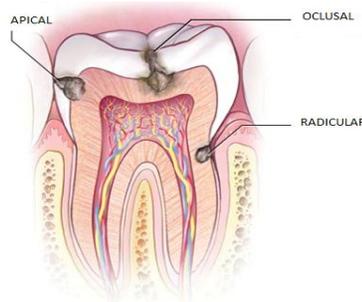


Figura 1.1 Localizaciones más frecuentes de la caries

El inicio de la caries se detecta clínicamente de forma diferente según la localización de la misma.

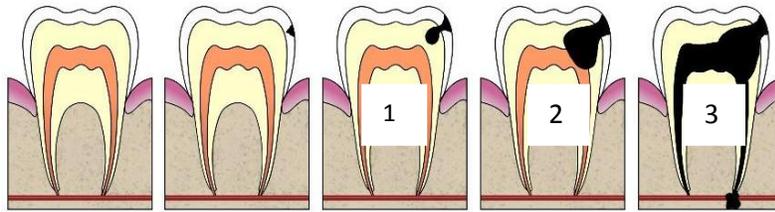


Figura 1.2 Progresión y clasificación de la caries. 1. Oclusal, 2. Proximal y 3. Radicular.

3.2 Fisiopatología de la caries dental

3.2.1 Iniciación del proceso

La caries más frecuente es la que se origina en la corona dentaria, que está totalmente rodeada por esmalte. Por tanto, el inicio del proceso de la enfermedad se localiza fundamentalmente en este tejido dentario.

La placa bacteriana no puede considerarse, en principio, como un elemento patógeno que siempre al estar presente desarrolle caries o enfermedades periodontales. Todas las personas tienen placa y, sin embargo, no todas desarrollan enfermedad.

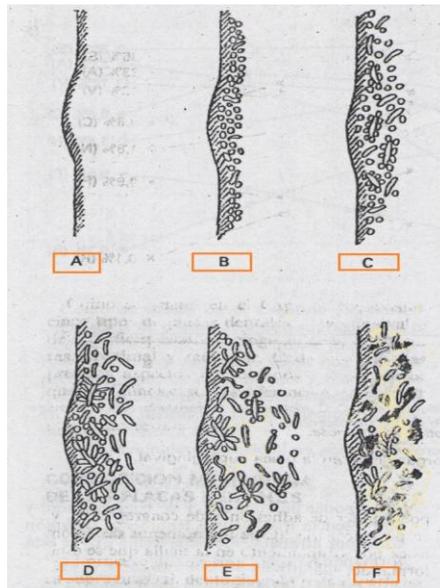


Figura 1.3 Esquema de colonización bacteriana en donde: A. Formación de la película adquirida, B y C. Colonización primaria D. Colonización secundaria, E. Placa madura, F. Mineralización.²²

3. Generalidades

Diversos factores, entre los que destacan el papel de la dieta, producen cambios microbianos cuantitativos y cualitativos en la placa bacteriana, que implican el inicio y evolución de la enfermedad. Se ha debatido mucho sobre si es una o son varias las bacterias específicas implicadas, fundamentalmente en el inicio de la caries, o si se debe a un gran número de bacterias no específicas implicadas.¹⁶

Existen diferentes opiniones, aunque todas parecen estar de acuerdo en la importancia de los *Streptococos de grupo mutans* en el inicio de la caries del esmalte.

Se basa en los resultados de investigaciones, fundamentalmente epidemiológicas, realizadas en animales y seres humanos, y de las que destacan las siguientes:

1. Correlación significativa en seres humanos de recuentos de *Streptococos del grupo mutans* en placa y saliva.
2. Este grupo bacteriano se aísla con mucha frecuencia de la superficie del diente antes del desarrollo de la caries, y coloniza las lesiones de mancha blanca.
3. La inmunización de animales con *Streptococos del grupo mutans* reduce significativamente la incidencia de caries.¹⁷

3.3 Etiología de la caries

Se considera una enfermedad multifactorial, resultado de la intervención de tres factores principales: el hospedador (diente y saliva), la microbiota, y la dieta. Es necesaria la interacción de los tres durante un período de tiempo suficiente para que se desarrolle la caries.

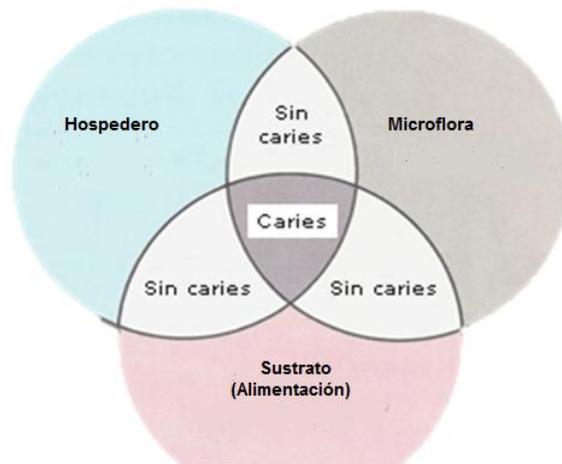


Figura 1.4 Esquema de Keys: Interacción de los factores primarios en la etiología de la caries¹³

3.3.1 Factores del hospedador

a) La anatomía e histología del diente influyen en la susceptibilidad de diferentes zonas dentarias. La susceptibilidad es mayor cuando las fisuras son profundas o presentan defectos morfológicos. La edad, es decir, el tiempo transcurrido desde que un diente erupcionó hasta que no se alcanza la maduración posteruptiva del esmalte.

b) La exposición al flúor reduce la incidencia de caries; el esmalte resiste mejor al ataque ácido. Otros factores del hospedador son: la disposición de los dientes en la arcada; algunas formas de maloclusión, que favorecen la acumulación de placa; también los pacientes portadores de aparatos fijos o removibles.

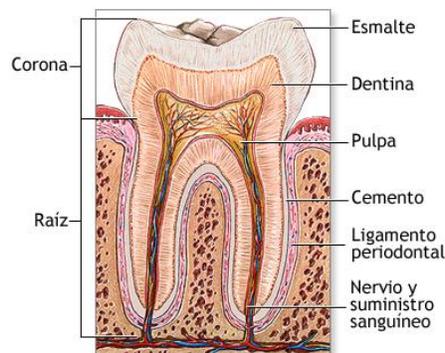


Figura 1.5 Anatomía del diente

c) La saliva ejerce una acción de auto limpieza, que está implicada en la eliminación de restos alimenticios y microorganismos no adheridos a las superficies; tiene una alta capacidad de amortiguación neutraliza los ácidos producidos por la placa bacteriana; la remineralización de lesiones de caries; el mantenimiento de la estructura ya que está sobresaturada de calcio y fosfato; los factores antimicrobianos como lisozima, lactoperoxidasa, lactoferrina o las inmunoglobulinas, no están aún perfectamente aclarados.

Una reducción de la secreción salival (hiposalivación) sobre todo cuando es grave (xerostomía), produce cambios en el ecosistema microbiano de la cavidad oral.

3.3.2 Factores del sustrato (Dieta)

Estudios epidemiológicos han demostrado una relación directa entre la caries dental y el consumo de hidratos de carbono. El azúcar más cariígeno es la sacarosa. Estudios experimentales en animales y en seres humanos demuestran un incremento de esta enfermedad en poblaciones con dietas ricas en el disacárido como la sacarosa.

Para evaluar el papel cariogénico de la dieta, deberán tenerse en cuenta otros factores, la cantidad, tipo de azúcar y la consistencia de los alimentos. Estos pueden ser: retentivos por que se adhieren a la superficie y detergentes ya que estimulan la producción de la saliva y desaparecen rápidamente de la boca. En el momento de la ingesta ya que si se consumen alimentos ricos en azúcares durante las comidas, el flujo salival está estimulado, la eliminación es más rápida que cuando el alimento es ingerido entre comidas, o peor aún antes de acostarse, debido a que el flujo salival es menor y nulo durante el sueño.⁹

3.4 Ecología de la cavidad oral

La microbiota de la cavidad bucal es compleja (comprende hasta el presente más de 300 especies) e incluye microorganismos endógenos y exógenos que pueden colonizar y comportarse como oportunistas, si el medio bucal y los condicionantes sistémicos los favorecen.

Tabla 1.1 Las especies más importantes de la microflora de la placa¹¹

	Grampositivos		Gramnegativos	
	aerobio, anaerobio facultativo	anaerobio	aerobio, anaerobio facultativo	anaerobio
Cocos	<i>Streptococcus</i> <i>S.milleri</i> <i>S.mitis</i> <i>S.mutans</i> <i>S.salivarius</i> <i>S.sanguis</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Veillonella</i>
Bacilos	<i>Corynebacterium</i> <i>Lactobacillus</i> Familia <i>Actinomycetaceae</i> <i>Actinomyces</i> <i>Arachnia</i> <i>Bacterionema</i> <i>Rothia</i>	<i>Eubacterium</i> <i>Propionibacterium</i>	<i>Acinobacillus</i> <i>Capnocytophaga</i> <i>Eikenella</i> <i>Haemophilus</i>	<i>Fusobacterium</i> <i>Leptotrichia</i> <i>Bacteroides</i> Grupo <i>B.-oralis</i> <i>B.gingivales</i>
Bacilos espirilados				<i>Campylobacter</i> <i>Treponema</i>

3. Generalidades

La cavidad bucal posee básicamente dos tipos de superficies en las cuales los microorganismos pueden colonizar: piezas dentarias y tejidos blandos.

Particularmente un gran número de microorganismos son encontrados en el dorso de la lengua, alrededor del surco gingival y en la superficie dentaria. A nivel del diente las acumulaciones blandas, no calcificadas de bacterias y sus productos son referidos como placa dental. Esta es definida como una masa bacteriana fuertemente adherida a la superficie dentaria, y que no está formada exclusivamente por restos alimenticios.

Los tejidos blandos poseen distintas características: la mucosa yugal presenta células no queratinizadas, y el paladar está cubierto por estas células. La superficie dorsal de la lengua posee papilas con diferente grado de queratinización. Por este motivo, los microorganismos colonizan diferentes nichos ecológicos de acuerdo con las funciones que cumplen.²⁵

Tabla 1.2 Distribución aproximada de microorganismos en la cavidad oral: 1. Mucosa oral 2. Dorso de la lengua 3. Placa supragingival madura 4. Surco gingival en estado de salud periodontal 5. Saliva⁵

Microorganismos	Porcentaje				
	1	2	3	4	5
1. Cocos	97%	67%	50%	67%	65%
1.1 Grampositivos anaerobios facultativos	95%	45%	37%	50%	44%
1.2 Grampositivos anaerobios estrictos	<1%	4%	<1%	4%	3%
1.3 Gramnegativos aerobios	<1%	2%	2%	<1%	3%
1.4 Gramnegativos anaerobios estrictos	1.5%	16%	12%	13%	15%
2. Bacilos	<4%	33%	48%	32%	35%
2.1 Grampositivos anaerobios facultativos	<1%	12%	40%	18%	15%
2.2 Grampositivos aerobios	<1%	2%	<1%	<1%	2%
2.3 Grampositivos anaerobios estrictos	<1%	6%	<1%	3%	7%
2.4 Gramnegativos anaerobios facultativos	<1%	5%	3%	6%	4%
2.5 Gramnegativos anaerobios estrictos	<1%	8%	3%	5%	7%
3. Treponemas	---	<1%	1%	1%	---

3.5 Formación de la película adquirida

La formación de la placa dental es el resultado de una serie de complejos procesos que involucran una variedad de componentes bacterianos y de la cavidad bucal del hospedero. Estos procesos son los siguientes:

1. La superficie dentaria no se encuentra en contacto con la cavidad bucal. Inmediatamente después de cepillar un diente, comienzan a depositarse sobre su superficie, proteínas de origen salival y del fluido crevicular, por un proceso de absorción altamente selectivo y específico, formándose como resultado una película acelular que varía de grosor entre 0.1 y 3 micrómetros con un alto contenido de grupos carboxilos y sulfatos que incrementan la carga negativa neta del esmalte.

2. En el proceso de formación de la película, son incorporadas a su superficie una serie de componentes de origen salival tales como enzimas Lizosima, Peroxidasa y Amilasa, que pueden influenciar la colonización bacteriana sobre la película. Igualmente son incorporadas enzimas extracelulares de origen bacteriano como la Glucosiltransferasas (GTF), e Inmunoglobulinas.

3. Luego de formada la película adquirida, ésta comienza a ser colonizada por microorganismos residentes de la cavidad bucal. Este proceso ha sido dividido en cuatro etapas:

a) Deposición. Fase reversible se produce un acercamiento de las bacterias a la superficie de la película.

b) Adhesión. Fase irreversible en la que participan componentes tanto de la bacteria como del hospedero, la presencia de esos componentes determina que se produzcan uniones químicas o físicas entre los constituyentes. Algunos de los mecanismos propuestos para la adherencia son:

i) A través de adhesinas.

ii) Por medio de puentes de Calcio y de Magnesio entre los componentes bacterianos de carga negativa como el ácido teicoico y lipoteicoico y los componentes cargados negativamente de la película adquirida.

iii) Por medio de polisacáridos extracelulares tipo Glucan y enzimas Glucosiltransferasas producidas por microorganismos sacarolíticos como el *Streptococcus del grupo mutans*.

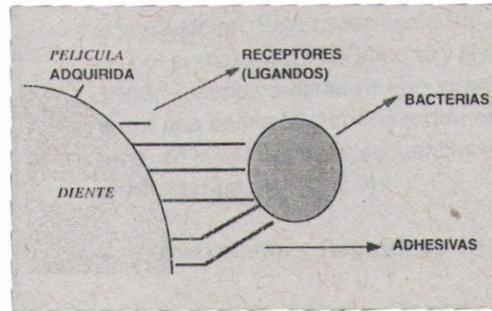


Figura 1.6 Mecanismos de adherencia bacteriana. Unión a través de adhesinas.

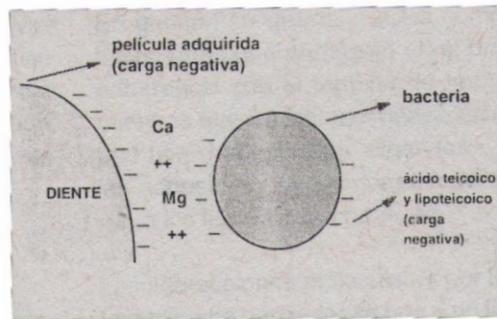


Figura 1.7 Mecanismos de adherencia bacteriana. Unión por medio de puentes de Calcio y Magnesio.

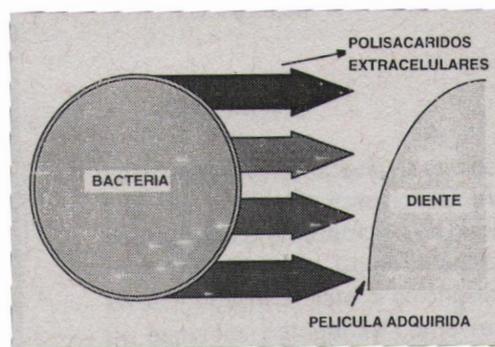


Figura 1.8 Mecanismos de Adherencia Bacteriana. Unión por medio de polisacáridos extracelulares tipo Glucan y enzimas glucosiltransferasa.

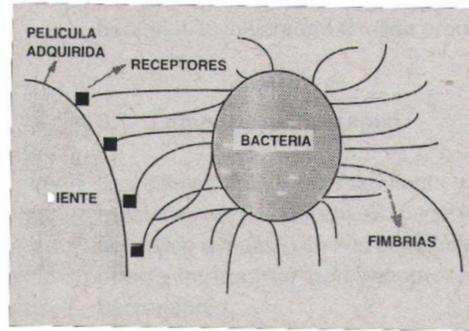


Figura 1.9 Mecanismos de adherencia Bacteriana. Unión por medio de fimbrias.

c) Repetición de las fases ya mencionadas. La adherencia se realiza sobre una primera capa bacteriana ya establecida en la película a través de mecanismos de coagregación.

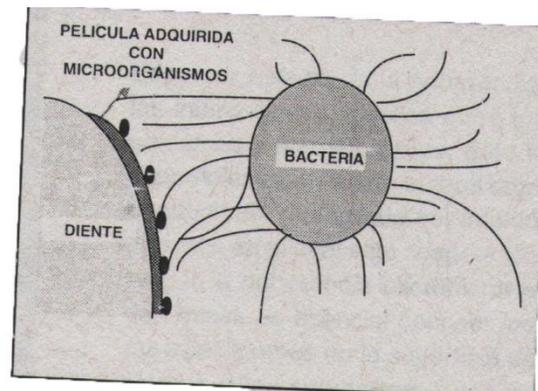


Figura 2.0 Repetición de las fases 1 y 2. Adherencia de bacterias sobre una primera capa bacteriana ya establecida en la película. Mecanismos de coagregación.

d) Crecimiento y Reproducción de los microorganismos adheridos a la película, permite conformar una capa confluyente y madura referida como placa dental.²⁹

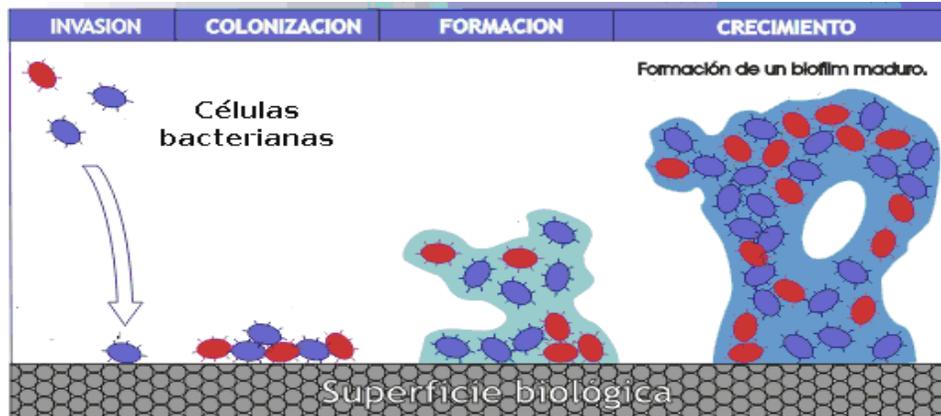


Figura 2.1 Esquema representativo del desarrollo de la placa dental.

3.5.1 Placa y su relación con la caries

La razón por la que no se ha demostrado una correlación importante entre la actividad de caries y las cuentas totales de *Streptococcus del grupo mutans* en una muestra de saliva es obvia cuando se considera también que una proporción importante en la saliva proviene de la lengua y de las superficies de otros tejidos blandos de la boca. Estos factores indican que las condiciones en la boca de individuos con caries activa favorecen la presencia de un mayor número de microorganismos acidógenos.

El *Streptococcus pyogenes* aislado ocasionalmente de la cavidad oral probablemente derivan de la oronasofaringe y no deberían considerarse como parte de la flora residente. Los enterococos son escasos en la lengua y representan menos del 10 por ciento.

3.6 *Streptococcus del grupo mutans*

Streptococcus del grupo mutans parece ser el único reconocido, iniciando consistentemente las lesiones en las superficies lisas.

Es considerada la especie más frecuentemente aislada de las lesiones cariosas. En 1924, Clarke lo aisló de algunas lesiones de caries de seres humanos. Le dio el nombre de “mutans” porque a veces se observaban como cocos en cadenas y en ocasiones como cocobacilos, es decir, un comportamiento pleomorfo (modificación de forma). La adhesión de este microorganismo esta mediada por la interacción entre proteínas y la saliva que son absorbidos por el esmalte dental; la capacidad de acumulación en la placa ocurre cuando *Streptococcus del grupo mutans* produce glucanos solubles e insolubles utilizando las enzimas glucosiltransferasas, a partir de los azúcares de la dieta cuando la unión se

hace más fuerte, las bacterias degradan la sacarosa produciendo ácidos, como el láctico, desmineralizan el diente, formando la cavidad que se encuentra en la caries dental.

3.6.1 Características estructurales y antigénicas

Al observar este microorganismo en cultivos en agar sangre sus colonias presentan alfa y gama hemolisis. Todas las cepas de *Streptococcus del grupo mutans* fermentan el manitol, inulina, sorbitol, rafinosa y esculina; algunas cepas fermentan melobiosa; son negativas para la ureasa, arginina, hidrólisis de hipurato. Crecen en medios que contengan cloruro de sodio al 4%, aunque no al 6.5%. Es posible utilizar diferentes estrategias para el aislamiento e identificación de las cepas de *Streptococcus del grupo mutans*. Considerando los medios líquidos es posible recomendar el caldo Todd Hewitt, que permite el desarrollo de la mayoría de los microorganismos especialmente útil para el cultivo de estreptococos fastidiosos. Con relación a los medios sólidos, es recomendable el uso del agar Mitis Salivarius, adicionándole 20% de sacarosa, 0.2 U/ml de bacitracina y solución de telurio de potasio al 1% además, este medio contiene otras sustancias inhibitoras como azul de tripán y cristal violeta. Las colonias se observan de color azul oscuro con bordes irregulares, estrellados bien adheridas al medio y a veces rodeadas de una zona de gotas de agua, debido a la producción de polisacáridos extracelulares que conforman el glicocálix.

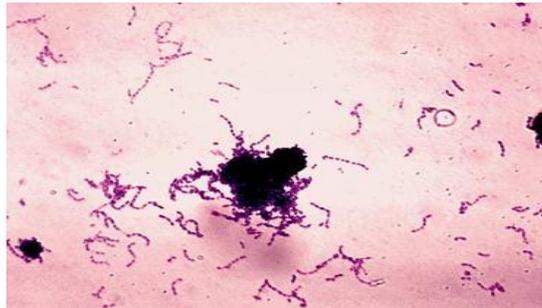


Figura 2.2 Cadenas de estreptococos en una tinción de Gram

Desde el punto de vista estructural y dependiendo de las especies pueden distinguirse, además del ADN cromosómico, citoplasma, mureína o peptidoglicano y membrana citoplasmática, otros elementos de interés como:

a) Ácidos teicoicos y lipoteicoicos. Están íntimamente ligados al peptidoglicano. Tienen un carácter antigénico e intervienen en procesos de adhesión.

3. Generalidades

b) Carbohidratos de la pared celular. Presentan carácter antigénico e intervienen en procesos adhesivos, de agregación y coagregación bacteriana.

c) Proteínas de la pared celular. Están asociadas a la mureína con frecuencia sobrepasan la pared y tienen funciones distintas:

i) Poseen carácter antigénico de forma independiente asociadas a los ácidos lipoteicoicos y fimbrias.

ii) Actividades enzimáticas como glucosil y fructosil transferasas, aunque su procedencia sea la membrana citoplasmática.

iii) Se comportan como adhesinas fijándose a superficies blandas o a superficies duras.

iv) Pueden actuar como receptores de glucanos como importantes factores de virulencia acción antifagocitaria, interferir en la activación del complemento o comportarse como superantígenos.

d) Fimbrias. Intervienen en la adhesión a tejidos y en los fenómenos de agregación y coagregación bacteriana.

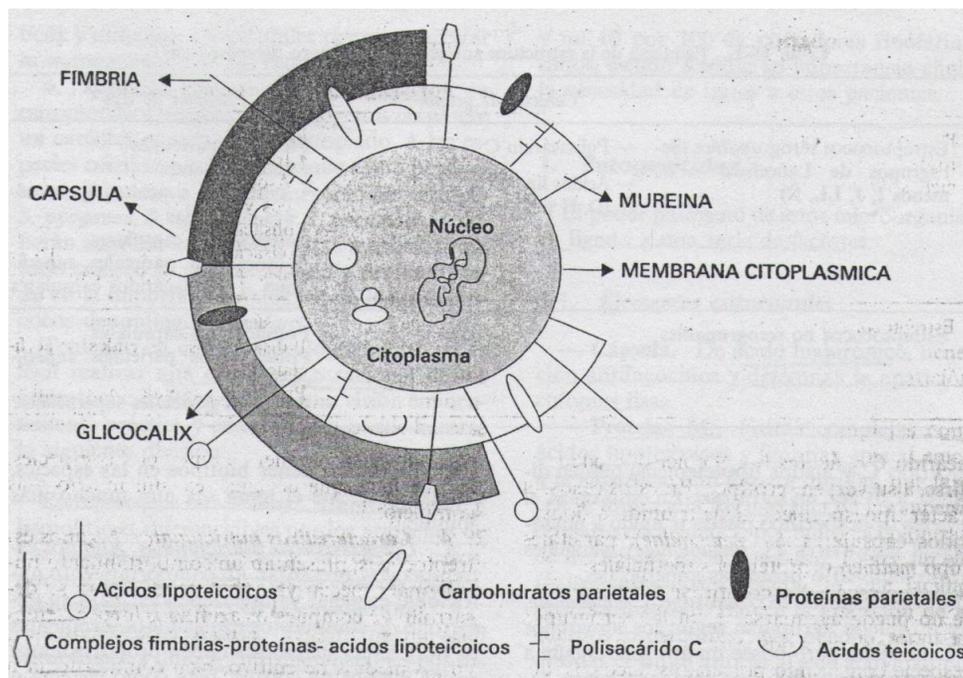


Figura 2.3 Representación esquemática de la estructura de los *Streptococos sp.*²

Estructuralmente no difieren del modelo general de todos los estreptococos, salvo en la ausencia de cápsula y en que las fimbrias, son poco prominentes. Poseen una capa mucosa en cuya composición siempre hay glucanos tanto solubles como insolubles, por lo que poseen glucosiltransferasas de bajo y alto peso molecular. Estas enzimas, localizadas primitivamente en la membrana citoplasmática, emergen sobrepasando la pared celular e incluso se excretan al medio favoreciendo los fenómenos de agregación por afinidad con los compuestos que originan. Poseen una serie de polisacáridos en la pared celular que permiten, por su diferente composición, distinguir los serotipos a, b, c, d, e, f, g, y h, presentes de forma variable en las diversas especies.

En su pared presentan proteínas frecuentemente antigénicas y también involucradas en diversos fenómenos: fijación de glucanos, adhesión a la película adquirida e interacciones proteína-proteína o lectina-carbohidratos que a veces se ve favorecida por la saliva gracias al conjunto de cationes y glucoproteínas salivales.

Las glucosiltransferasas son GTB B, GTB C y GTB D enzimas que desdoblan la sacarosa, sintetizando glucanos insolubles (dan soporte a la placa bacteriana) y solubles (estos le sirven como fuente de nutrición).²²

3.6.2 Metabolismo de la sacarosa

La sacarosa, un disacárido de glucosa más fructosa, el hidrato de carbono que en mayor cantidad consume el hombre; por ello se entiende que es el que con más facilidad y en mayor cuantía utilizan las bacterias orales y en especial los *Streptococos del grupo mutans*.

3.6.3 Producción de ácidos

Tanto este compuesto como otros son introducidos en la vía glucolítica hasta formar piruvato, a partir de aquí los estreptococos siguen la vía del piruvato formato liasa, formándose formato y acetil CoA, a partir de éste, acetato y etanol y, especialmente la vía de la lactato deshidrogenasa con formación de lactato, que es producto final más importante, hasta el 80% del total de los ácidos. Por ello estas bacterias pueden considerarse como homofermentadoras para el lactato. Aun así, como la piruvato formato liasa se inactiva en presencia de oxígeno para medir la cantidad total de ácidos debería utilizarse una atmósfera anaerobia.

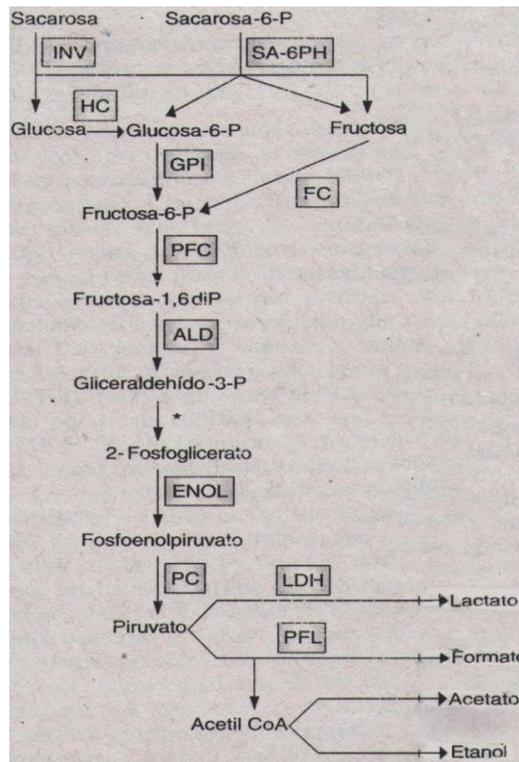


Figura 2.4 Esquema de la producción de ácidos por los *Streptococos del grupo mutans* en donde: INV invertasa, HC hexocinasa, SA-6PH sacarosa-6-P hidrolasa, GPI glucosa-fosfato isomerasa, FC fructocinasa, PFC fosfo-fructocinasa, ALD aldolasa, ENOL enolasa, PC piruvatocinasa, LDH lactato deshidrogenasa, PFL piruvato formato liasa * Varias enzimas.

3.6.4 Transporte y entrada en la célula bacteriana

El más eficaz para los *Streptococos del grupo mutans* referidos a la sacarosa y otros hidratos de carbono, es el sistema de la fosfoenolpiruvatofosfotransferasa (translocación de grupos). Esto es así basándose en los siguientes hechos:

1. Es capaz de regular los niveles de la sacarosa intracelular o sus metabolitos intermedios mediante la piruvatocinasa, enzima que se activa ante exceso y se inhibe ante déficit del disacárido o de los otros compuestos.
2. El azúcar ingresa fosforilado, lo que supone una reserva energética.

3. Generalidades

3. Los componentes de la translocación de grupo son muy específicos de determinados nutrientes (sacarosa, otros azúcares o polialcoholes); esto provoca que la célula se apropie rápidamente del menor indicio de estos compuestos existentes en el medio; dichos componentes, además, son inducidos ante cualquier indicio de elementos nutricionales.

Otro sistema de ingreso de sacarosa usado por estas bacterias sería el del gradiente de protones y, en su caso, el importe de sodio; en la práctica, salvo por la acción ATPasa que aumenta su actividad cuando el pH citoplasmático baja y permite una buena tolerancia a los ácidos, son menos eficaces que la translocación de grupo en función de que:

- El azúcar no entra fosforilado
- La especificidad de las permeasas parece ser inferior
- En la práctica, aunque no funciona a favor de un gradiente, requiere elevadas concentraciones ambientales.

Los otros sistemas de transporte, como la difusión simple o facilitada, sólo actuarían ante situaciones de elevadas concentraciones extracelulares de sacarosa.

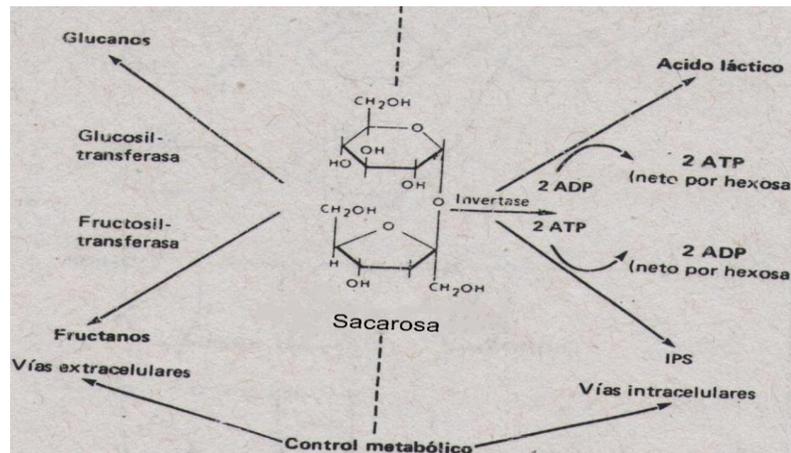


Figura 2.5 Representación esquemática del destino metabólico de la sacarosa en una variedad de cepas de *Streptococos del grupo mutans*

3.6.4.1 Síntesis de polisacáridos extracelulares

Ante un exceso de sacarosa disponible, ésta se aprovecha para, además de obtener energía, sintetizar polisacáridos de reserva tanto extra como intracelulares. Con respecto a los primeros, hay que señalar que todos los *Streptococos del grupo mutans* tienen glucosiltransferasas (incluso poseen varios tipos de ellas reguladas por distintos genes). Por ejemplo, los genes *gtfB* y *gtfC* (GTF-I), forman glucanos insolubles y la regulada por el gen *gtfD* lo hace con los glucanos solubles (GTF-S). Por el contrario, no todas las especies del grupo poseen fructosiltransferasas (FTF).

La importancia de estos compuestos en la cavidad oral radica en:

1. Los glucanos insolubles forman una parte importante de la matriz acelular de las placas y, además, son fundamentales en los fenómenos de adhesión a tejidos del hospedero, a compuestos biocompatibles y entre bacterias
2. Los glucanos solubles y los fructanos son elementos de reserva nutricional, ya que algunas enzimas, de las propias bacterias que los producen o de otras próximas, como las glucanasas y fructanasas, rompen los enlaces $\alpha(1,6)$, $\beta(1,2)$ y $\beta(2,6)$, lo que les permite, ante la falta de nutrientes, obtener compuestos simples metabolizables.

3.6.4.2 Síntesis de polisacáridos intracelulares

El proceso se inicia a partir de la glucosa-6-P formada en el curso de la glucólisis. La ADP-glucopirofosforilasa es el elemento básico en la síntesis, de tal forma que se verá estimulada por productos intermedios formados en exceso en la glucólisis. Una vez sintetizados, estos polisacáridos pueden ser movilizados para su uso; esto ocurre con bajos niveles de fosfoenolpiruvato o, lo que es igual, con escasos nutrientes disponibles intracelularmente (cabe suponer que también a nivel extracelular); de esta forma se activa la glucógeno fosforilasa y el glucógeno pasa a glucosa-1-P y posteriormente a glucosa-6-P entrando en la vía glucolítica.

3.6.4.2.1 La importancia del metabolismo de los azúcares.

1. Ante una gran disponibilidad de azúcares, ocurren los siguientes acontecimientos:
 - a) Síntesis de polisacáridos extracelulares.
 - b) Síntesis de polisacáridos intracelulares.

c) Ingreso por difusión simple, difusión facilitada, gradiente de protones e importe de sodio.

d) Activación de la piruvatocinasa y del lactato deshidrogenasa, abriéndose la puerta del lactato, y actuación de la ATPasa en sentido extracelular.

e) Incremento de la producción de ácido láctico y descenso del pH.

2. Ante una escasa disponibilidad de azúcares, se producen los siguientes procesos:

a) Movilización de polisacáridos extracelulares.

b) Movilización de polisacáridos intracelulares.

c) Ingreso especialmente de grupos por traslocación.

d) La piruvatocinasa se inhibe, se cierra la puerta del lactato y el fosfoenolpiruvato se utiliza para el sistema de la fosfoenolpiruvato-fosfotransferasa.

e) Disminuye de forma importante, al menos en los primeros momentos, la producción de ácido láctico.

3. La formación de los metabolitos intermedios derivados del denominado azúcar asesino, son tóxicos para las bacterias, esto será evitada por:

a) Síntesis de polisacáridos extracelulares.

b) Síntesis de polisacáridos intracelulares.

c) Activación de la piruvatocinasa.

d) Apertura de la puerta del lactato.¹⁵

3.7 Clasificación serológica y genética

Es un grupo genéticamente heterogéneo, se puede dividir en varios subgrupos de acuerdo con sus reacciones serológicas y bioquímicas y a sus características genéticas, tales como su composición básica de ADN.

3. Generalidades

Bratthall describió la presencia de cinco serotipos a, b, c, d y e subsecuentemente otros investigadores revelaron dos serotipos adicionales f y g; siendo las cepas de serotipos c encontradas con mayor frecuencia.

Los componentes antigénicos específicos de serotipos de *Streptococos del grupo mutans* pueden ser extraídos en una forma soluble por varios métodos. Los antígenos purificados de las cepas de los serotipos a, b, c, d, y g son polisacáridos localizados sobre la pared celular de este microorganismo. Están constituidos principalmente de una combinación de glucosa, galactosa o ramnosa. Estos difieren de polisacáridos específicos de ciertos grupos de estreptococos β -hemolíticos en ausencia de cantidades significantes de N-acetilglucosamina y N-acetilgalactosamina, una pequeña cantidad de estos aminoazúcares se encuentra en los antígenos a y b. ²³

El trabajo experimental se desarrollo en el laboratorio de microbiología L-514 de la sección de Ciencias de la Salud Humana departamento de Ciencias Biológicas en la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México.

4.1 Selección de muestra

Las cepas de *Streptococos del grupo mutans* fueron aisladas a partir de muestras de saliva, placa bacteriana y caries de voluntarios con dentición mixta.

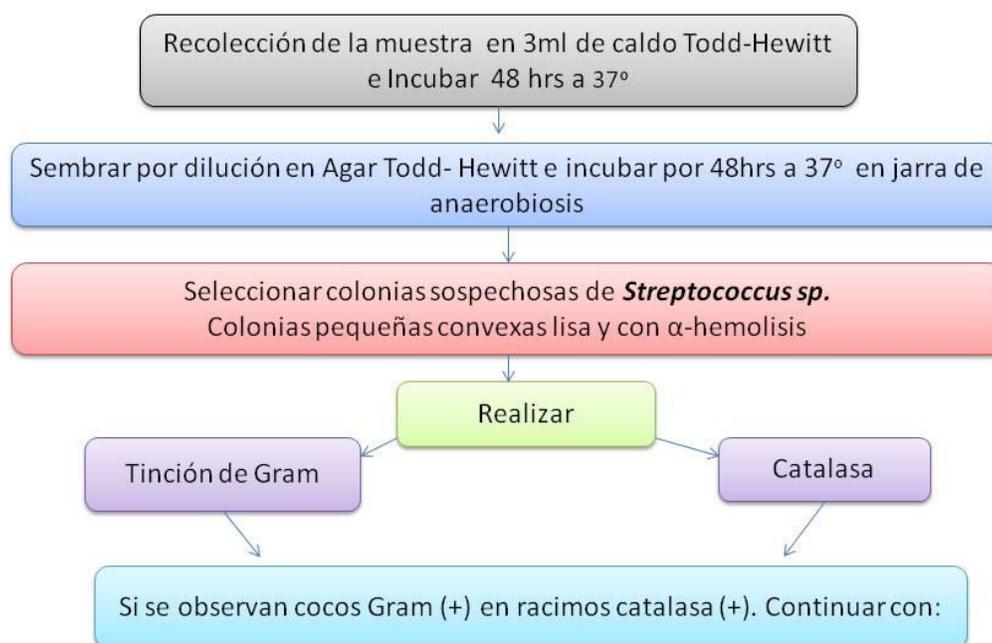
4.2 Exploración bucodental

La exploración de la salud bucal se llevó a cabo por dos odontólogos a estos se les indico realizar la toma de muestra antes de utilizar algún bactericida.

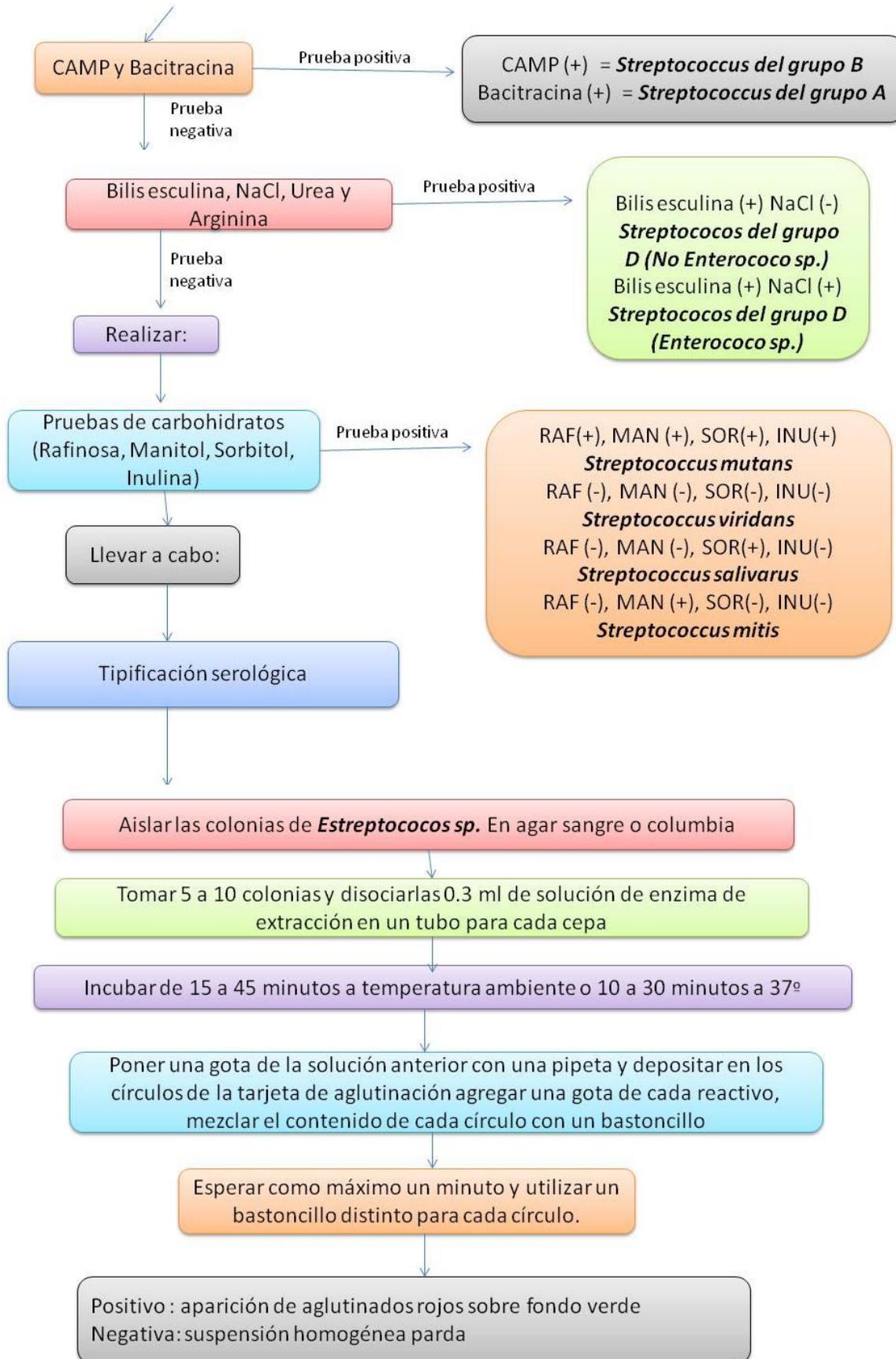
Los criterios utilizados en el estudio

- Número de identificación: a cada paciente se le asigno un número de referencia de un dígito; a partir del número 1 y subsecuente.
- Sexo: indicando si era Femenino o Masculino.
- Edad.
- Tipo de muestra: Indicando si esta era caries, placa bacteriana, saliva.

4.3 Diagrama de flujo



4. Material y Método



4.4 Recolección y proceso de muestras

A) Saliva

- Toma de muestra: a cada paciente se le hacía simular masticar algún alimento para generar más saliva y recolectarla mediante cuñas de metal estériles e introduciéndola en el tubo con el medio de transporte.

B) Caries

- Toma de muestra: se realizó la remoción de esmalte y extracción de algún diente con caries.

C) Placa bacteriana

- Toma de muestra: se efectuó durante la exploración con una cuña de metal estéril se recogió de superficies lisas (molares, incisivos y de superficies oclusales).

Transporte: las muestras eran recogidas en tubos con 3ml de caldo Todd-Hewitt estériles, estos se recolectaban en un recipiente con hielo para llevarlos al laboratorio. Las muestras se incubaron por 48 hrs a 36° C.

Procedimiento:

Se sembraron en Agar Todd-Hewitt por la técnica de dilución y se colocaron en una jarra de anaerobiosis e incubadas por 48hrs a 36°C. Las colonias blancas, pequeñas, convexas, α -hemolíticas se aislaron y se les hizo la prueba de Gram y catalasa principalmente. Los cocos Gram (+) en cadenas cortas, catalasa (-) se les realizó sensibilidad a la bacitracina para descartar a *Streptococos* del grupo A y la prueba de CAMP para *Streptococos* del grupo B. Para diferenciar e identificar a *Streptococos del grupo mutans* las pruebas de bilis esculina, cloruros, arginina, urea y los carbohidratos.

Para corroborar que *Streptococos del grupo mutans* no pertenece a la clasificación de Lancefield se utilizó una prueba de aglutinación la cual era un test Pastorex Strep de Biorad para determinar el grupo de los *Streptococos sp.* de acuerdo a la clasificación ya mencionada. Como referencia de morfología colonial y resultados de pruebas bioquímicas se usó una cepa pura de *Streptococos del grupo mutans* ATCC 356668 y también se utilizaron controles para las pruebas de CAMP y bacitracina (*Streptococos* del grupo A y B).

4.5 Características morfológicas y bioquímicas de *Streptococos del grupo mutans*

La morfología de las colonias es muy diversa y depende del medio de cultivo. No obstante que la morfología más común en un medio sólido es la de colonias pequeñas,

α -hemólisis, la tonalidad depende de la presencia de un colorante en el medio y de la cepa que se esté utilizando, algunas cepas pueden producir un pigmento entre rojo y anaranjado sin la presencia de un colorante en el medio o color azul para el caso del Agar mitis-salivarius. Son circulares, convexas, lisas y/o mucoides si al medio se le agrega un poco de sacarosa y algunas pueden ser ásperas. Son cocos Gram (+) en cadenas cortas y catalasa negativa; crecen en medios que contengan cloruro de sodio al 4%, no utilizan la arginina, urea y no hidrolizan el almidón pero si fermentan rafinosa, manitol, sorbitol, trehalosa e inulina.

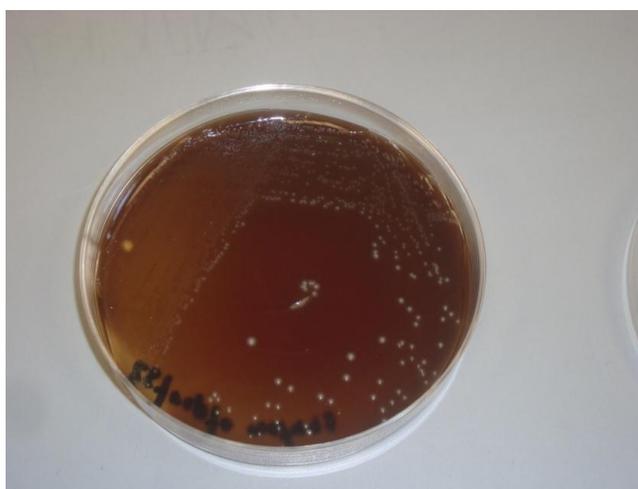


Figura 2.6 Colonias puras de *Streptococcus* del grupo mutans

4.6 Tipificación serológica para la clasificación de Lancefield

4.6.1 Preparación de las muestras

Aislar las colonias de *Streptococcus sp.* en Agar Sangre o Agar Columbia.

4.6.2 Preparación de los extractos

Poner 0.3 ml de solución de enzima de extracción en un tubo para cada cepa, tomar 5 a 10 colonias y disociarlas en la enzima incubar de 15 a 45 minutos a temperatura ambiente o 10 a 30 minutos a 37°.

4.6.3 Identificación del grupo de los extractos

Poner una gota del extracto con una pipeta y depositar en los círculos de la tarjeta de aglutinación agregar una gota de cada reactivo de látex mezclar y esperar como máximo un minuto. Utilizar un bastoncillo distinto para cada círculo.



Figura 2.7 Reactivos de látex para la identificación del grupo *Streptococos sp.* según la clasificación de Lancefield

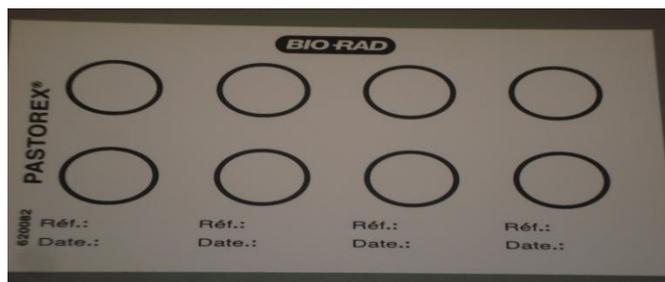


Figura 2.8 Tarjeta de aglutinación



Figura 2.9 y 3.0 Kit de tipificación serológica del grupo *Streptococos sp.* marca Bio-rad

4.6.4 Interpretación de los resultados

Reacción positiva: aparición de aglutinados rojos sobre fondo verde.

Reacción negativa: suspensión homogénea parda.



Figura 3.1 Reacción negativa para *Streptococcus* del grupo mutans.

5. Resultados y Discusión

La recolección de muestras se efectuó durante los meses de octubre a diciembre del año 2011.

El total de muestras fue de 100 el porcentaje de pacientes divididos en intervalos de 10 se encuentran en la (tabla 1.4) el más pequeño con edad de 6 años y de 76 años el más grande además del conteo por el tipo de muestra (tabla 1.3).

Tabla 1.3 Total de la población estudiada por tipo de muestra

Tipo de muestra	No. Total de muestra
Caries	30
Placa bacteriana	52
Saliva	18
Total	100



Figura 3.2 Grafica de la población estudiada por tipo de muestra

Tabla 1.4 Total de muestras por rango de edad

Intervalo de edad (años)	Numero de muestras
6 – 16	28
17 – 26	13
27 – 36	14
37 – 46	12
47 – 56	17
57 – 66	10
67 – 76	6
Total	100

5. Resultados y Discusión

En primera instancia se realizó la identificación de la muestra (folio, sexo, edad y tipo de muestra), a partir del cultivo en Agar Todd Hewitt y aislamiento bacteriano se obtuvieron colonias con las siguientes características macroscópicas y microscópicas: se seleccionaron las colonias blancas, pequeñas, circulares, convexas, lisas y con α -hemolisis; al transcurrir entre 72 y 94 horas más desarrollaba un pigmento color anaranjado ver **Figura (3.3 y 3.4)**. Cocos Gram (+) en cadenas cortas, catalasa negativo y se le realizaron pruebas de bilis esculina, NaCl 6.5%, Arginina, Urea los resultados eran negativos y fermentaron los carbohidratos (manitol, sorbitol, inulina, rafinosa, melobiosa y trealosa). Estas características nos indicaron la presencia de *Streptococos* del grupo mutans. Los datos obtenidos fueron comparados con una cepa de referencia y los resultados de las pruebas coincidían con la colonia aislada. **Figura (3.5 y 3.6)**.



Figura 3.3 Colonias de *Streptococos del grupo mutans* en agar Todd-Hewitt.



Figura 3.4 Pigmento generado por *Streptococos del grupo mutans* 72 horas después de ser sembrado en Agar BHI.

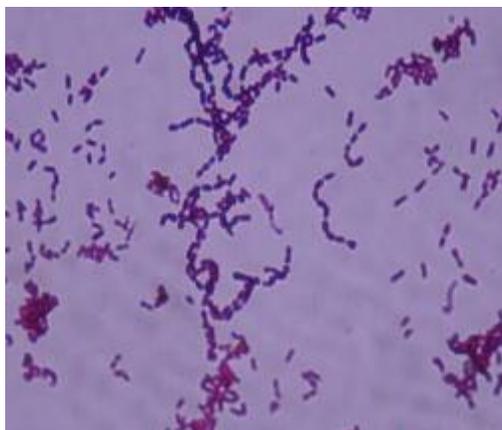


Figura 3.5 Tinción de Gram de *Streptococos* del grupo mutans

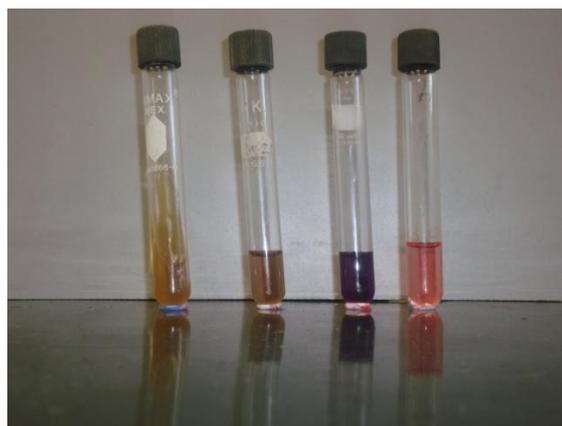


Figura 3.6 Resultados de las pruebas: bilis esculina, arginina, cloruro de sodio 6.5 % y urea para *Streptococos del grupo mutans*.

Debido a que el medio no es selectivo ni el ideal para el aislamiento de *Streptococos del grupo mutans* y a la falta de información en la literatura sobre el crecimiento de esta bacteria en Agar Todd Hewitt fue difícil el aislamiento de esta pero con la ayuda de la cepa de referencia utilizada se logró la identificación. La mayoría de la información consultada y reportada solo era en medio Agar Mitis Salivarius y sus variantes pues este es el ideal para aislar y recuperar este grupo de estreptococos.²⁰

En un estudio realizado en Colombia se comparó la recuperación de *Streptococos del grupo mutans* en siete medios de cultivo: MSA (Mitis Salivarius Agar), MSB (Mitis Salivarius Agar- Bacitracina), MSKB (Mitis Salivarius Agar- Bacitracina Sulfisoxazol), MS-MUT (Tripticasa soya- Extracto de levadura- sucrosa- Bacitracina) TYS20B medios referenciados como selectivos. BHI (Agar Infusión Cerebro Corazón) medio enriquecido y

5. Resultados y Discusión

TH (Agar Todd Hewitt) medio selectivo para *Streptococos sp.* este presentó el menor porcentaje de recuperación y se demostró una mayor recuperación del microorganismo en el medio TYS20B.¹⁸

En busca de este microorganismo también se aislaron diferentes bacterias pertenecientes a la microbiota de la boca; en la siguiente tabla observamos las diferentes bacterias aisladas en los tres tipos de muestras.

Tabla 1.5 Distribución de datos de la bacteria aislada de acuerdo al tipo de muestra

Microorganismos aislados	Caries	Placa Bacteriana	Saliva	Total
<i>Streptococos del grupo A</i>	2	1	0	3
<i>Streptococos del grupo D (Enterococo)</i>	5	3	3	11
<i>Streptococos del grupo D (No Enterococo)</i>	2	11	2	15
<i>Streptococcus viridans</i>	0	3	0	3
<i>Streptococcus salivarius</i>	2	0	1	3
<i>Streptococcus mitis</i>	0	1	1	2
<i>Streptococcus mutans</i>	2	3	2	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	0	1	3
<i>Staphylococcus coagulasa negativo sp.</i>	7	11	1	19
<i>Levaduras sp.</i>	0	4	1	5
<i>Lactobacillus sp.</i>	3	1	0	4
<i>Enterobacterias sp.</i>	2	8	5	15
<i>Pseudomonas sp.</i>	6	6	1	13
Sin desarrollo bacteriano	2	7	1	10
Total	35	59	19	113

Aunque la población fue de 100 se tuvo un total de 113 microorganismos aislados por la presencia de una o más colonias en algunas muestras. Por el lugar de la toma de muestra se esperaba mayor crecimiento de bacterias y solo en un porcentaje bajo se desarrolló más de una colonia; el factor involucrado en este punto también fue el sitio de partida para el bajo índice de aislamiento de *Streptococos del grupo mutans* que se discutirá más adelante.

5. Resultados y Discusión

Las colonias que presentaban cocos Gram(+) en racimos solo se les realizo la prueba de coagulasa para determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* y en el caso de los bacilos Gram (-) los pertenecientes a la familia de *Enterobacterias sp.* solo se diferencio en lactosa (+) y lactosa (-); al ser sembradas en Agar Mc Conkey; para el caso de *Pseudomona sp.* solo se realizo la prueba de oxidasa y se sembró en un medio Agar Cetrimida. Los bacilos Gram(+) en cadenas catalasa (-) e inmóviles se consideraron como *Lactobacillus sp.*, y solamente se reporto *Levaduras sp.* sin identificar a este tipo de microorganismos pues no pertenece a los objetivos.

Pseudomonas sp. se aisló 4% (tabla 2.2) y en mayor cantidad en muestras de caries en progresión, es decir, estaban en zona radicular. No forma parte de la microbiota oral y la presencia de esta podría ser por la susceptibilidad del diente y exposición del nervio al agua de consumo diario o también el uso del agua por parte del odontólogo al retirar el diente tratar de limpiar el área dañada además de considerar la limpieza del material quirúrgico recordemos que este microorganismo es nosocomial.

Actualmente este microorganismo comienza a causar preocupación por su presencia en infecciones de vías respiratorias bajas.⁸



Figura 3.7 Colonias de *Pseudomonas sp.* aisladas de muestras de caries en progresión

5. Resultados y Discusión

En la siguiente tabla se presenta un resumen de los microorganismos encontrados en el total de la población.

Tabla 1.6 Porcentaje de microorganismos aislados

Bacteria aislada	%
<i>Estreptococos del grupo A</i>	3
<i>Estreptocococos del grupo D (Enterococo)</i>	12
<i>Estreptocococos del grupo D (No Enterococo)</i>	15
<i>Lactobacillus sp.</i>	7
<i>Levaduras sp.</i>	14
<i>Enterobacterias sp.</i>	4
<i>Pseudomonas sp.</i>	4
<i>Streptococos viridans</i>	10
<i>Streptococos mitis</i>	3
<i>Streptococos salivarius</i>	3
<i>Streptococos Mutans</i>	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	3
<i>Staphylococcus coagulasa negativo sp.</i>	19
Sin desarrollo bacteriano	15

El porcentaje total del grupo *Estreptococos sp.* fue del 45% en los estudios realizados el 50% de la microbiota oral pertenece a este grupo. Se tuvo el 15% en muestras que no tenían desarrollo bacteriano debido a que la muestra recolectada eran sólo restos de comida que se encontraba adherida en el diente y que pudo ser confundida con placa bacteriana. El porcentaje restante pertenece a microorganismos como: *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativo sp.*, *Enterobacterias*, *Pseudomonas sp.*

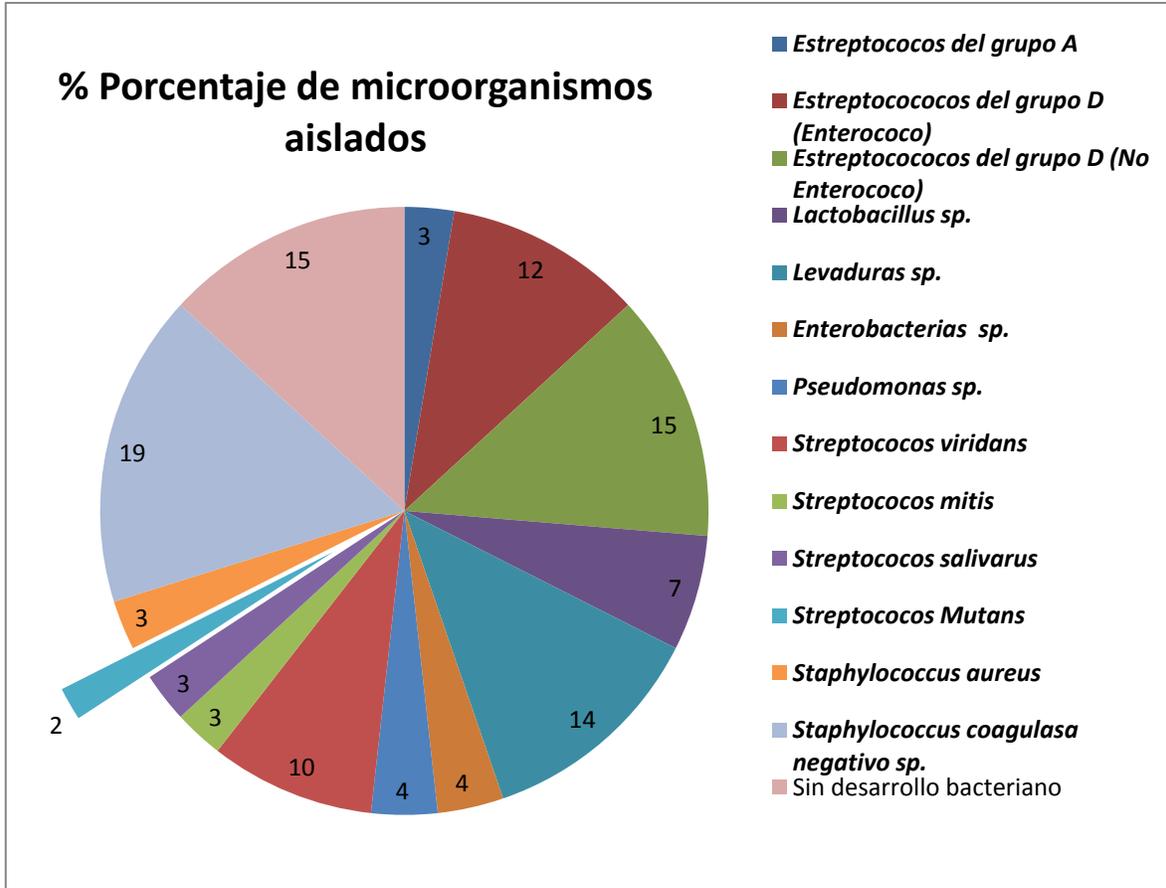


Figura 3.8 representación grafica de la distribución de porcentajes de los microorganismos aislados

En la recuperación de *Streptococcus del grupo mutans* sólo se logró aislar en un 2% en muestras de saliva y placa bacteriana en pacientes con un rango de edad entre 6 y 26 años (tabla 1.7) de un total de 100 muestras, este porcentaje es muy bajo para relacionarlo con el desarrollo de la caries este resultado se vio afectado por lo siguiente: los pacientes estudiados acudieron con previo aseo bucal a la toma de muestra, este factor no fue controlado debido a la falta de disposición de la población estudiada, pues al pedir una muestra de este tipo causaba desconfianza de su uso.

Estudios previos han reportado que la recuperación de *Streptococcus del grupo mutans* en saliva de infantes entre 6 y 20 años es alto lo que nos indica la presencia de esta bacteria en la progresión de la caries y el factor de la edad también es importante¹ por lo tanto se ha logrado el interés en querer inhibir el crecimiento de este microorganismo ya sean medios naturales o sintéticos²⁷ para disminuir la incidencia de caries en la población infantil.

5. Resultados y Discusión

En la actualidad, la caries dental es una enfermedad infecciosa más recurrente en el mundo, además de ser una de las patologías más frecuentes en cavidad oral. Está relacionada con una etiología multifactorial que incluye la susceptibilidad del huésped, la dieta y los microorganismos cariogénicos. En vista de la importancia que juegan las bacterias como agentes causales de esta enfermedad, los organismos predominantes son cocos gram positivos del género *Streptococcus sp.* los cuales forman cerca del 50% y los hidratos de carbono refinados provocaron un aumento en la incidencia de esta patología tanto en los países desarrollados como en los que están en vía de desarrollo.

Estreptococos del grupo mutans se aisló solo de dos muestras y no puede considerarse como el principal agente en el proceso de la caries en placa bacteriana y en saliva debido al bajo porcentaje de aislamiento.

Lógicamente la placa bacteriana es el ecosistema primario en el cual la presencia de un alto porcentaje de bacterias cariogénicas determina el inicio y progresión de la enfermedad, sin embargo la técnica es compleja la posibilidad de una toma de muestra en zonas oclusales y proximales es difícil y se incrementa su dificultad si la superficie esta poco o no colonizada.

La toma de saliva facilita la recuperación y el recuento de *Estreptococos del grupo mutans* aunque no es posible saber si las bacterias vienen de una superficie sana o cariada.

Y en las superficies que se encuentran en proceso de caries suelen estar colonizadas no sólo con el principal causante de este proceso en este caso *Estreptococos del grupo mutans* sino también de otros microorganismos que aprovechan este proceso, es por esto que no se logro aislar de una superficie con caries. La extracción del diente podría ser una opción adecuada pero este proceso solo la facilita la contaminación de este tipo de muestra y hace difícil el aislamiento.

El uso de la cepa de referencia permitió comparar el desarrollo del *Estreptococos del grupo mutans* con las colonias aisladas y validar el resultado.

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos decir que se logro aislar este microorganismo pero no podemos considerarlo como el iniciador del proceso de caries por el bajo índice. Controlando los factores ya discutidos además de delimitar la población estudiada y utilizando un medio más selectivo como Agar Mitis Salivarius se podría aislar en mayor porcentaje y ser mejor estudiado.

Se logro el aislamiento de Estreptococos del grupo mutans en muestras de placa bacteriana y saliva de voluntarios de diferentes edades y sexo. El cual fue identificado por sus características macroscópicas, microscópicas, pruebas bioquímicas primarias, secundarias y adicionales. Los resultados se compararon con el crecimiento de la cepa de referencia ATCC 356668 confirmando la presencia de este microorganismo en la caries.

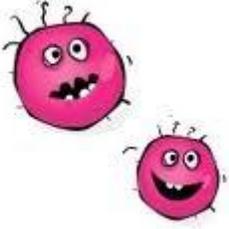
El conocer el sitio posible de aislamiento y los factores que intervienen en el desarrollo de caries dental; además tener el impacto en el estado de salud bucodental representa un área de oportunidad para establecer esquemas de tratamiento que modifiquen las variables que están influyendo con el estado de salud en general.

1. Aguilera Galaviz L. Alejandro. "Streptococcus mutans en saliva y su relación con caries dental en una población infantil de la comunidad Tacoaleche Guadalupe, Zacatecas" Revista ADM, Órgano oficial de la asociación Dental Mexicana 59(6): 48-56, Diciembre 2009.
2. B. Islam, S.N. Khan, A.U. Khan, "Dental caries: from infection to prevention," Med. Sci. Monit. 13: 196-203, 2007.
3. Beighton D.; Hardie J "A scheme for the identification of viridians streptococci" J. Med. Microbiol., 35: 367-372.
4. Breed S. Robert. "Bergey's manual of determinative bacteriology" 7ª ed. Estados Unidos 1957. Editorial Baltimore the Williams de Wilking company. Páginas consultadas: 506-528.
5. Burnett W. Gourge "Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca". 1ª ed. México 1986. Editorial Limusa. Páginas consultadas: 283-286.
6. Carranza D. "Periodontología clínica de Glickman" 4ª ed. México 1993. Interamericana. Páginas consultadas: 121-132, 441-446.
7. Castro Arqueros V. Marisel. "Inhibición del crecimiento in vitro de Streptococcus mutans por papaína y Sanitred". Tesis (Titulo de Cirujano dentista) Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de odontología, Departamento de patología, área de microbiología, 2005. 75 h.
8. Control de las infecciones respiratorias agudas. Situación actual del problema. Disponible en:http://www.sld.cu/sistema_de_salud/metodologica/epidemiologia.html Consulta do Diciembre 20, 2006
9. Cuenca E. "Manual de Odontología preventiva y comunitaria" 1ª ed. Barcelona 1991. Masson. Páginas consultadas: 7-46.
10. Francisco J. Enrile de Rojas, Antonio Santos-Aleman, "Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica," RCOE, 10: 445-452, 2005.
11. Gutierrez Prieto Sandra J. "Fundamentos de Ciencias Básicas aplicadas a la Odontología" 1ª ed. Bogotá 2006. Editorial Pontificia Universidad Javeriana. Páginas consultadas: 24-27.
12. Julian K.-C. Ma et al. "Characterization of a recombinant plant monoclonal secretory antibody and preventive immunotherapy in humans". Nature Medicine. 4: 601-606, 1998.

13. Kats S. Maldonado “Odontología preventiva en acción” 3ª ed. Buenos Aires 1986. Editorial Panamericana. Páginas consultadas: 429-445.
14. Liébana Cabanillas J. María “Estabilidad de Genotipos de Streptococcus Mutans en escolares usando la técnica AP-PCR y el cebador OPA-2. Tesis (Doctoral) Granada. Universidad de Granada, Facultad de odontología, 2008.155 h.
15. Liebana Ureña J. . “Microbiología Oral”. 2ª ed. Madrid 2002. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. Páginas consultadas: 319-462.
16. Lindhe J. “Periodontología clínica” 2ª ed. Buenos Aires 1992. Panamericana. Páginas consultadas: 65-91.
17. Loesche J. Walter “Role of Streptococcus mutans in human dental decay” Microbiological Reviews 50 (4): 353-380, Diciembre 1986.
18. M.I. Klein et al. “Tansmission, diversity and virulence factors of Streptococcus mutans genotypes,” J. Oral Sci. 47:59-64, 2005.
19. Medina A. Rosalba “ Estudio comparativo de medios de cultivo para crecimiento y recuperación de Streptococos mutans ATCC 25175 in vitro” Nova Publicación Científica. 3 (3): 25-30, Enero 2005.
20. Menaker L. “Bases biológicas de la caries dental” 1ª ed. Barcelona 1986. Salvat. Páginas consultadas: 21-45.
21. Moromi Nakata H. y Martínez Cadillo E. . “Efecto del té verde en la formación de la placa bacteriana por Streptococcus mutans” Revista Científica Odontología Sanmarquina. 9 (2): 23-24, Noviembre 2006.
22. Negroni Marta. “Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica”.1ª ed. Argentina 1999. Editorial Médica Panamericana. Páginas consultadas: 189-202.
23. Newbrun Ernest. “Cariología”. 1ª ed. México 1991. Editorial Limusa. Páginas consultadas: 92-105.
24. Nikiforuk Gordon. “Caries Dental (Aspectos básicos y clínicos)” 1ª ed. Argentina 1986. Editorial Mundi. Páginas consultadas: 165-177.
25. Nolte A. William. “Microbiología Odontológica “. 1ª ed. México 1971. Editorial Interamericana. Páginas consultadas: 170.
26. Sturdevant C. Roberson. “Operatoria dental arte y ciencia”31ª ed. Argentina 1996. Interamericana. Páginas consultadas: 223-228.

27. Porte L. Lorena. “Una bacteria que hace honor a su nombre” Revista Chilena de infectología. 26(6): 571, 2009.
28. Salazar A. Luis. “Acción antimicrobiana in vitro de la miel de abejas sobre los microorganismos cariogénicos del Estreptococos del grupo mutans” International Journal of Morphology. 27(1): 77-82, 2009.
29. Seif R. Tomás. “Cariología (prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental)”. 1ª ed. Venezuela 1997. Editorial Actualidades Médico Odontológicas Latinoamericana. Páginas consultadas: 37-52.
30. Thylstrup A. “Caries” 1ª ed. Barcelona 1986. Editorial Doyma. Páginas consultadas: 447-462.

ANEXO Y SUGERENCIA



z8.1 Medios de cultivos utilizados**-Caldo Todd Hewitt y Agar Todd Hewitt**

Composición de caldo Todd Hewitt y Agar

Infusión cerebro corazón	3.10 g
Peptona	20.0 g
Glucosa	2.0 g
Cloruro de sodio	2.0 g
Fosfato disódico	0.4 g
Carbonato de sodio	2.5 g
Agar	15g/L

Fórmula en gramos por litro pH 7.8 ± 0.2 **-Agar sangre**

Composición Agar sangre

Agar	15 g
Cloruro de sodio	5 g
Infusión cerebro corazón	10 g
Peptona	10 g

Fórmula en gramos por litro pH 7.3 ± 0.2 **-Bilis esculina**

Composición de bioquímica bilis esculina

Agar	15.0 g
Bilis de buey	40.0 g
Citrato férrico	0.5 g
Esculina	1.0 g
Extracto de carne	3.0 g
Peptona especial	5.0 g

Fórmula en gramos por litro pH 6.6 ± 0.2 **-Base CTA**

Composición de medio CTA

L-cistina	0.5 g
Peptona de caseína	20.0 g
Agar	2.5 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Sulfito de sodio	0.5 g
Rojo de fenol	0.017 g

Fórmula en gramos por litro pH 7.3 ± 0.2

Con una cantidad del hidrato de carbono de al 1%

-Cloruros

Composición de NaCl 6.5%

Cloruro de sodio	99.5 %
Purpura de bromocresol	0.3 ml
Glucosa	0.024 g

Fórmula en gramos por litro pH 7.3 ± 0.2

-Arginina

Composición de Arginina

Peptona	5.0 g
Extracto de carne	5.0 g
Purpura de bromocresol	0.01 g
Rojo de cresol	0.005 g
Glucosa	0.5 g
L-arginina	0.005 g

Fórmula en gramos por litro pH 6.0 ± 0.2

-Urea

Composición de bioquímica Urea

Extracto de levadura	0.10 g
Fosfato monopotásico	9.10 g
Fosfato disódico	9.50 g
Rojo de fenol	0.01 g
Urea	20.0 g

Fórmula en gramos por litro pH 6.8 ± 0.2

8.2 Interpretación de pruebas bioquímicas

1. Sensibilidad de la bacitracina:

Discos de bacitracina

Sensible: cualquier zona alrededor de disco; crecimiento inhibido

Resistente: ninguna zona alrededor del disco; crecimiento hasta el disco y alrededor de él.

2. CAMP:

Reacción CAMP positiva: producción de una característica zona en punta de flecha de hemólisis completa (clara).

Reacción CAMP negativa: ausencia del fenómeno en punta de flecha.

3. Prueba de cloruros

Positivo: incremento en la tonalidad del color purpura

Negativo Sin cambio

4. Bilis esculina

Resultado positivo cambio de un color castaño oscuro a negro hacia el pico de flauta y hacia las colonias translúcidas a blancas.

Resultado negativo no existe ennegrecimiento del medio.

5. Arginina

Prueba positiva: color púrpura turbio a amarillo- púrpura apagado (el microorganismo produjo cadaverina).

Prueba negativa: color amarillo brillante claro (el microorganismo sólo fermento la glucosa).

6. Urea

Positivo: color rosa-rojo intenso en todo el caldo.

Negativo: sin cambios de color amarillo-naranja.

7. Carbohidratos (rafinosa, manosa, sorbitol, melobiosa, trehalosa, inulina)

Prueba positiva: color amarillo sólo en el fondo del tubo.

Prueba negativo: sin cambio de color anaranjado.

8.3 Sugerencia

En base a los resultados obtenidos en este trabajo se sugiere el control de los siguientes factores edad, sexo, raza, higiene, tipo de muestra, medio de cultivo utilizado para el aislamiento y recuperación de *Streptococos del grupo mutans* pues en este grupo existen muchas variantes con probable base genética lo cual amerita una profunda investigación.

8.4 Resumen descriptivo de los resultados

Tabla 1.8 Colonias aisladas de Agar Todd- Hewitt en pacientes de 0 a 10 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bio químicas					Pruebas adicionales				Carbohidratos						Diagnostico		
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	AMB	CAM	Bac 0.04 UI	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN	SOR	MEL	TRE		INU	
60		v		19	F	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-		-	+	-	-	-	-	-	Streptococcus mitis
64		v		12	F	Pequeña, amarilla, circular, elevada, irregular y cremosa	Bacilos largos Gram (+)	+																	Lactobacillus sp.
68		v		17	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+							-										Staphylococcus coagulasa negativo sp.
70	v			15	M	Sin desarrollo bacteriano en 72 hrs de incubación																			
76		v		13	F	Pequeña, blanca, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	+									Streptococos del grupo D (Enterococo sp.)
83		v		11	F	Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	-									Streptococos del grupo D (No Enterococo sp)

Tabla 1.9 Colonias aisladas de Agar Todd- Hewitt en pacientes de 0 a 10 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas			Pruebas adicionales				Carbohidratos				Diagnostico				
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 UI	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF		MAN	SOR	MEL	TRE
13			v	9	F	Sin Desarrollo Bacteriano en 72 hrs de incubación																	
18			v	7	M	Sin Desarrollo Bacteriano en 72 hrs de incubación																	
19			v	7	M	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-	-	-	-	R	-	-		-	-	+	-	-	-	-	Streptococcus salivarius
23			v	10	F	>Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-	-	-	-	R	+	-									Streptococos del grupo D No Enterococo
						>Pequeña, blanca, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-	-	-	-	R	+	+									

Tabla 2.1 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 0 a 10 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas				Pruebas adicionales				Carbohidratos				Diagnostico	
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 U	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN		SOR
66			v	10	M	Pequeña, amarilla, circular, elevada, irregular y cremosa	Bacilos largos Gram (+) sin agrupacion	+													Lactobacillus sp.
71	v			15	M	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-	+	-	-	-	Streptococcus salivarius
77			v	9	M	Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa, α-hemolisis desarrollo de pigmento color anaranjado 48 hrs después	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	+	+	+	+	+	Streptococcus mutans
78			v	7	M	Pequeña, amarilla, circular, elevada, irregular y cremosa	Bacilos largos Gram (+)	+													Lactobacillus sp.

Tabla 2.2 Colonias aisladas de Agar Todd- Hewitt en pacientes de 10 a 20 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas			Pruebas adicionales			Carbohidratos						Diagnostico						
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Ui	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN		SOR	MEL	TRE	INU		
81	v			6	M	Pequeña, blanca, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	+										Streptococos del grupo D (Enterococo sp.)
86			v	8	M	Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	-										Streptococos del grupo D (No Enterococo sp.)
89			v	10	M	Sin Desarrollo Bacteriano en 72 hrs de incubación																				
96			v	9	M	Pequeña, blanca, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	+										Streptococos del grupo D (Enterococo sp.)

Tabla 2.3 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 10 a 20 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas			Pruebas adicionales				Carbohidratos				Diagnostico	
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF		MAN
21	v		12	M	>Grande, verde, irregular, elevada, lisa y cremosa	Bacilos largos Gram(-)sin agrupación	+	-												Enterobacteriaceae sp. Lactosa +
22	v		13	F	>Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R								Streptococos del grupo D (No Enterococo sp.)

Tabla 2.4 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 10 a 20 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas			Pruebas Adicionales			Carbohidratos					Diagnostico					
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 UI	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Co ag	RAF		MAN	SOR	MEL	TRE	INU
28	v			17	F	Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa, α-hemolisis desarrollo de pigmento color anaranjado 48 hrs después	Cocos Gram(+) cadenas cortas	+		-	-	+	R	-	-			+	+	+	+	+	+	Streptococcus mutans
36	v			12	M	Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras																	Levaduras sp.
37			v	14	F	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R	-	-			-	-	-	-	-	-	Streptococcus viridans
40	v			18	F	Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	+		-	-	-	R	+	-									Streptococos del grupo D (No Enterococo sp.)

Tabla 2.5 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 10 a 20 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas				Pruebas adicionales				Carbohidratos				Diagnostico	
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Ui	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN		SOR
90			v	12	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+						+							Staphylococcus aureus
92	v			20	M	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-	-	-	-	-	Streptococcus viridans
94			v	16	M	Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras	+													Levaduras sp.
95			v	18	M	Sin desarrollo bacteriano en 72 hrs de incubación															

Tabla 2.6 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 20 a 30 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas				Pruebas adicionales				Carbohidratos				Diagnostico	
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN		SOR
2			v	21	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+													Staphylococcus coagulasa negativos sp.
7	v			30	F	Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras	+													Levaduras sp
8	v			22	M	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-				-	S								Streptococos del grupo A
14	v			25	F	>Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	-					Streptococos del grupo D (No Enterococo sp.)
						>Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-		-	+	-	-

Tabla 2.7 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 20 a 30 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas					Pruebas adicionales				Carbohidratos						Diagnostico			
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN	SOR	MEL	TRE		INU		
15	v			22	M	Sin Desarrollo Bacteriano en 72 hrs de incubación																				
29	v			28	F	Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-	-	-	-	R	+	-												Streptococos del grupo D (No Enterococo sp.)
30	v			21	F	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-	-	-	-	R	-	-		-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Streptococcus mitis
31	v			25	F	Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras	+																		Levaduras sp.
46	v			30	F	Sin Desarrollo Bacteriano en 72 hrs de incubación																				

Tabla 2.8 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 20 a 30 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas			Pruebas adicionales				Carbohidratos						Diagnostico	
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN	SOR		MEL
47	v			30	F	>Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras	+														Levaduras sp.
						>Pequeña, amarilla, circular, elevada, irregular y cremosa	Bacilos largos Gram (+) sin agrupación	+														
61	v			30	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+						-								Staphylococcus coagulasa negativo sp.
65			v	30	F	Grande, verde, irregular, elevada, lisa y cremosa	Bacilos largos Gram(-) sin agrupación	+														Enterobacteriaceae sp.
67	v			27	F	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	S									Streptococos del grupo A
72	v			22	F	Pequeña, amarilla, circular, elevada, irregular y cremosa	Bacilos largos Gram (+)	+														Lactobacillus sp.

Tabla 2.9 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 20 a30 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas					Pruebas adicionales				Carbohidratos						Diagnostico	
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN	SOR	MEL	TRE		INU
74	v			29	F	Sin Desarrollo Bacteriano en 72 hrs de incubación																		
87	v			24	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+							-									Staphylococcus coagulans negativo sp.

Tabla 3.0 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 30 a 40 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas			Pruebas adicionales				Carbohidratos						Diagnostico	
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN	SOR		MEL
1	v			33	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+							+							Staphylococcus aureus
9	v			32	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+							-							Staphylococcus coagulasa negativo sp.
16	v			38	M	Pequeña, blanca, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	+						Streptococos del grupo D (Enterococo sp.)
17	v			34	F	Grande, amarilla, irregular, elevada, lisa y cremosa	Bacilos cortos Gram (-) sin agrupacion	+	+													Pseudomonas sp.
39	v			39	F	Pequeña, grisacea, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+								-						Staphylococcus coagulasa negativo sp.
49	v			38	F	Sin Desarrollo Bacteriano en 72 hrs de incubacion																

Tabla 3.1 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 30 a 40 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas				Pruebas adicionales				Carbohidratos				Diagnostico				
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 U	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN		SOR	MEL	TRE	INU
51	v			40	F	Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras	+													Levaduras sp.			
						Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+									+							
62	v			39	F	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α -hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-		-	-	+	-	-	-	Streptococcus salivarius
73		v		33	M	Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	-								Streptococcus del grupo D (No Enterococcus sp.)
84		v		35	M	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+																Staphylococcus coagulasa positivo sp.

Tabla 3.3 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 40 a 50 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas				Pruebas adicionales				Carbohidratos						Diagnostico	
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN	SOR	MEL		TRE
3	v			49	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) en racimos	+															Staphylococcus coagulans negativo sp.
27	v			44	F	Grande, amarilla, irregular, elevada, lisa y cremosa	Bacilos cortos Gram (-) sin agrupación	+	+														Pseudomonas sp.
54	v			44	M	>Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras	+															Levaduras sp.
						>Pequeña, blanca, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	+							
59	v			49	M	Grande, verde, irregular, elevada, lisa y cremosa	Bacilos largos Gram(-) sin agrupación	+															Enterobacteriaceae sp.

Tabla 3.5 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 40 a 50 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas					Pruebas adicionales				Carbohidratos					Diagnostico	
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Ui	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN	SOR	MEL		TRE
98	v			50	F	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α -hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-		-	-	-	-	-	Streptococcus viridans
100	v			43	M	Sin desarrollo bacteriano en 72 hrs de incubación																	

Tabla 3.6 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 50 a 60 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas			Pruebas adicionales			Carbohidratos					Diagnostico		
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Ui	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF		MAN	SOR
4	v			58	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) en racimos	+													Staphylococcus coagulasa negativo sp.
5	v			56	F	Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras	+													Levaduras sp.
6	v			56	M	Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras	+													Levaduras sp.
32	v			55	M	Sin Desarrollo Bacteriano en 72 hrs de incubación															
33	v			55	M	Pequeña, amarilla, circular, elevada, irregular y cremosa	Bacilos largos Gram (+) sin agrupación	+													Lactobacillus sp.

Tabla 3.7 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 50 a 60 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas			Pruebas adicionales				Carbohidratos					Diagnostico					
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN		SOR	MEL	TRE	INU	
41	v		60	M	>Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	-								Streptococos del grupo D (No Enterococo sp.)		
					>Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	Streptococcus viridans
					>Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) en racimos	+										-								
43	v		54	M	Pequeña, blanca, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	+							Streptococos del grupo D (Enterococo sp.)			

Tabla 3.8 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 50 a 60 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas			Pruebas adicionales				Carbohidratos				Diagnostico				
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Ui	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF		MAN	SOR	MEL	TRE
44	v			60	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) en racimos	+														Staphylococcus coagulasa negativo sp.	
45	v			53	M	>Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-		-	-	-	-	-	Streptococcus viridans
						>Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) en racimos	+															
48	v			55	M	Pequeña, blanca, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	+							Streptococcus del grupo D (Enterococcus sp.)

Tabla 3.9 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 50 a 60 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas			Pruebas adicionales				Carbohidratos						Diagnostico	
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	ARG	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN	SOR		MEL
50	v			58	M	>Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras	+														Levaduras sp.
						>Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-		-	-	-	-	-
52	v			60	M	Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	-						Streptococos del grupo D (No Enterococo sp.)
53	v			55	M	Pequeña, blanca, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	-						Streptococos del grupo D (No Enterococo sp.)

Tabla 4.0 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 50 a 60 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas				Pruebas adicionales				Carbohidratos				Diagnostico		
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Ui	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN		SOR	MEL
55	v			52	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) en racimos	+														Staphylococcus coagulasa negativo sp
57	v			58	M	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) en racimos	+														Staphylococcus coagulasa negativo sp
58	v			55	F	Sin Desarrollo Bacteriano en 72 hrs de incubación																
63	v			59	M	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) en racimos	+														Staphylococcus coagulasa negativo sp
						Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras															
80	v			51	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) en racimos	+														Staphylococcus coagulasa negativo sp

Tab

la 4.1 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 50 a 60 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas				Pruebas adicionales				Carbohidratos				Diagnostico		
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 U	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN		SOR	MEL
88	v			58	M	Grande, amarilla, irregular, elevada, lisa y cremosa	Bacilos cortos Gram (-) sin agrupacion	+													Pseudomonas sp.	
91	v			60	F	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-		-	-	-	-	Streptococcus viridans
99		v		51	F	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-		-	-	-	-	Streptococcus viridans

Tabla 4.2 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 60 a 70 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas					Pruebas adicionales				Carbohidratos						Diagnostico					
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN	SOR	MEL	TRE		INU				
10	v			67	M	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-				-	S														Streptococos del grupo A	
11	v			67	M	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada y lisa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	+											Streptococos del grupo D (Enterococo sp.)	
12	v			67	M	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) racimos	+									-										Staphylococcus coagulasa negativo sp.	
20		v		61	F	Sin Desarrollo Bacteriano en 72 hrs de incubación																						
38		v		70	F	Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		+	-												Streptococos del grupo D (No Enterococo sp.)

Tabla 4.3 Colonias aisladas de Agar Todd-Hewitt en pacientes de 70 a 80 años

Folio	Tipo de muestra			Edad (años)	Sexo	Características de la colonia	Gram	Pruebas Bioquímicas					Pruebas adicionales					Carbohidratos					Diagnostico
	Caries	Placa bacteriana	Saliva					Cat	Oxi	Ure	Arg	CAM	Bac 0.04 Uj	Opto	Bilis	NaCl 6.5%	Coag	RAF	MAN	SOR	MEL	TRE	
42	v		71	F	Pequeña, brillante, puntiforme, elevada, lisa y α-hemolisis	Cocos Gram (+) cadenas cortas	-		-	-	-	R		-	-		-	-	-	-	-	-	Streptococcus viridans
						Pequeña, amarilla, circular, convexa, lisa y cremosa	Cocos Gram (+) en racimos	+										-					
56	v		76	F	Pequeña, blanca, circular, convexa, irregular y cremosa	Levaduras	+															Levaduras sp.	