



24-240

**Universidad Nacional Autónoma de México**

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

**PRESENCIA DE ENTEROBACTERIAS  
EN CAVIDAD BUCAL**

**T E S I S**

Que para obtener el título de  
**CIRUJANO DENTISTA**

*P r e s e n t a*

**LEONARDO SIERRA LONGEGA**

*Revisado y autorizado*



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# I N D I C E

INTRODUCCION .....	1
I GENERALIDADES	
a) Características y clasificación .....	4
b) Identificación .....	9
c) Toxinas y estructura antigénica .....	13
d) Patogenia y patología .....	16
e) Tratamiento .....	23
f) Prevención .....	25
II ENTEROBACTERIAS EN CAVIDAD BUCAL	
a) Flora indígena .....	28
b) Adherencia .....	29
c) Patología .....	32
III MODELO EXPERIMENTAL .....	35
a) Objetivos .....	37
b) Materiales .....	38
c) Procedimientos .....	39
d) Resultados .....	50
e) Valoración .....	53
IV DISCUSION .....	58
V CONCLUSIONES .....	64
BIBLIOGRAFIA .....	66

## I N T R O D U C C I O N

Es innegable la responsabilidad que tiene el odontólogo - para con la salud en general. El establecer una relación entre la presentación de múltiples enfermedades, como las causadas por la familia Enterobacteriaceae, y la cavidad bucal como vía de entrada, vislumbra ser de importancia.

La boca es un recinto tibio y húmedo, que provee una variedad de superficies favorables para la colonización bacterial y no es difícil que suceda que bacterias no deseadas se hospeden y puedan desencadenar alguna alteración.

Es lógico que en la boca transiten todo tipo de bacterias, por ser un medio que está expuesto al ambiente que nos rodea, además de ser el acceso para todo lo que ingerimos. El hecho que atravesen enterobacterias por este lugar, las veces que sea, no debe ser grave, lo grave es cuando encuentran en la cavidad bucal un lugar donde vivir y producir daño.

Es poco lo investigado hasta ahora sobre este específico punto, pues es obvio pensar que nadie espera encontrar estos organismos en boca, ya que normalmente se cree que no son patológicos en este sitio. Supuestamente, las enterobacterias no se establecen en la boca, su habitat natural es el intestino.

Este estudio pretendió probar que sí se encuentran en boca, no como una casualidad, sino con una frecuencia más allá de lo común y que pudiera ser, probablemente, la causa de una colonización en otras partes del organismo, tales como: vías

respiratorias, intestinales y genitourinarias.

Habiendo existido ya la iniciativa por parte de investigadores extranjeros de relacionar la boca con las enterobacterias, lo que a nosotros interesa es la muy particular situación de nuestra ciudad y en especial de una determinada zona, que es la que se tuvo al alcance (aledaña a la clínica periférica de la Facultad de Odontología, UNAM, en Padierna Contreras) y que es, sin lugar a dudas, una fiel representante de esta urbe con tantos problemas de salud y de las condiciones insalubres presentes en nuestro medio, tal como lo es el manejo inadecuado del agua "potable" por parte de la población, que generalmente no sigue las más elementales reglas de purificación.

Así pues, una de las finalidades de esta tesis será introducir a la Estomatología en la búsqueda etiopatológica de algunas alteraciones producidas por enterobacterias.

Es importante aclarar que el comprobar que la presencia de estos microorganismos en boca es determinante para que se presente una posterior colonización y por lo tanto un estado de patosis va más allá de lo que intenta lograr esta tesis.

Lo que sí busca es establecer que existe la probabilidad de que se encuentre alguna relación.

El simple hecho de encontrar especies de enterobacterias en cavidad bucal es la principal meta de esta investigación, como método de estudio de algunas enfermedades crónicas o agudas, o bien, formando parte de la flora normal o transitoria de la boca.

C A P I T U L O I

G E N E R A L I D A D E S

## CARACTERISTICAS Y CLASIFICACION

Las enterobacterias son una familia heterogénea de bacilos gramnegativos no esporulados. Son encontrados la mayor parte de las veces en el intestino del hombre y animales; algunos forman parte de la flora intestinal normal del ser humano, otros son patógenos para el mismo.

El nombre original de la familia es "Enterobacteriaceae", pero se conoce también por otros nombres como: "entéricos", - que ya está en desuso; "bacilos entéricos", que incluye otros tipos de bacilos que no pertenecen a la familia en cuestión; - y "enterobacterias", que será el que nosotros usemos, por ser el más práctico.

Son bacilos relativamente pequeños (2 x 0.5 micras aprox.). En su generalidad tienen flagelos peritricos, salvo algunas variantes que son inmóviles. La mayoría posee lipopolisacáridos complejos en su pared celular. Posee también una cápsula que los ayuda a protegerse contra la fagocitosis.

El hecho de no formar esporas indica que existen como células vegetativas, y son, por lo tanto, susceptibles de morir por el calor (agua en ebullición) y por agentes químicos.

Muchos de estos bacilos son de importancia particular en la actualidad como causa de infecciones yatrógenas o transmitidas por hospitales.

Los principales grupos son distinguidos por un desarrollo característico en los cultivos y subdivididos por ulteriores pruebas bioquímicas, tal como la fermentación de azúcares, o bien, por su estructura antigénica.

A las enterobacterias se les puede agrupar de la siguiente manera:

Escherichia coli	}	GRUPO COLIFORME
Klebsiella-Enterobacter- Hafnia-Serratia		
Providence		
Arizona-Edwardsiella- Citrobacter		
Proteus		
Salmonella		
Shigella		
Yersinia		

Bacterias coliformes.- Se dice que las bacterias de este gran grupo habitan el intestino sin causar enfermedad, aunque en condiciones especiales pueden producirla. El término "coliforme" no ha sido estrictamente definido, algunos incluyen en este grupo a todas las enterobacterias, otros se refieren únicamente a los que fermentan la lactosa.

Dentro de este grupo, casi siempre se nombran juntos a -- Klebsiella, Enterobacter, Hafnia y Serratia.

De la Klebsiella, la K. pneumoniae es la más importante, - es encontrada en el tracto respiratorio y heces en el 5 a 10% de los sujetos sanos.

El Enterobacter se encuentra en el agua, productos lácteos, estiércol y aguas negras, así como en el intestino del hombre;



es usualmente considerado como patógeno secundario, oportunista o comensal.

En las bacteremias por enterobacterias, Serratia y en especial S. marcescens es fácil de observar, debido a su pigmento rojo brillante, y ha sido considerada como saprófito de leve daño, es un patógeno oportunista.

Hafnia es una bacteria patógena para estómago e intestino.

También dentro del grupo de coliformes se mencionan juntas: Arizona, Edwardsiella y Citrobacter, que fermentan la lactosa muy lentamente; se les denomina bacterias "paracolon", y se parecen a Salmonella tanto en sus características bioquímicas como en su patogenicidad, principalmente Arizona. Edwardsiella es un género móvil productor de  $H_2S$ , decubierto hace poco. Citrobacter fué antiguamente llamado Escherichia freundii y Bethesda Ballerup, es diferenciado de Salmonella por la producción de B-galactosidasa y ausencia de lisina descarboxilasa.

A Providencia se le asocia con Proteus, ambos desaminan los aminoácidos y se les encuentra en formas de vida libre como en infecciones. Providencia se diferencia de Proteus por su ausencia de ureasa.

Escherichia coli es, sin lugar a dudas, la bacteria más común de este grupo, es conocida también como el bacilo "colon", porque es una especie predominante en el intestino grueso. La mayoría tiene flagelo y son móviles; su importancia estriba en que se le encuentra en diferentes partes del organismo, ya sea como flora normal, flora transitoria o asociada a una patología, desde leve hasta grave.

El género Salmonella, no incluido ya en el grupo de coli-

formas, contiene una gran variedad de especies patógenas para el hombre. No fermenta lactosa ni sacarosa y en algunas ocasiones producen abundante  $H_2S$ . Esencialmente todas son móviles y descarboxilan lisina y ornitina; quizá la especie más importante sea Salmonella typhi.

Shigella se limita a aparecer sólo en el intestino, crece rápidamente en condiciones de higiene pobre, áreas de desastre, campos de prisioneros de guerra y hospitales de salud mental. Shigella es mucho menos invasiva que Salmonella y se distingue de esta última por la ausencia de movilidad, falla para producir gas durante la fermentación y ausencia de lisina descarboxilasa. Las cuatro especies de Shigella son diferenciadas de otras enterobacterias por sus reacciones bioquímicas o por su estructura antigénica.

El género Proteus es comunmente encontrado en el estiércol, aguas negras, abono y a menudo en las heces fecales del hombre.

Yersinia es asociada a múltiples patologías, pero es muy raro que se le aisle en nuestro país.

Algunos autores han incluido a otros géneros dentro de esta familia, pero que en realidad no pertenecen, entre estos encontramos: Vibrios, Pseudomonas, Bacteroides, Fusobacterias, Erwinia, Peptobacterias, Cromatobacterias, entre otras.

En realidad las clasificaciones actuales son muy confusas, pues difieren unas de otras, y a veces se contradicen. Todo es debido probablemente a la similitud entre todas estas bacterias, y a la dificultad de identificación. Así pues, nosotros redactamos una clasificación que incluye a todas las bacterias que sí pertenecen a la familia Enterobacteriaceae (Figura 1).

FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

GENERO	ESPECIE (S)
Escherichia	coli
Klebsiella	pneumoniae, ozaenae, oxy- toca y rhinoscleromatis
Enterobacter	aerogenes, agglomerans, cloacae, sakazakii y gergione
Hafnia	alvei
Serratia	marcescens, liquefaciens y rubidea
Arizona	hinshawii
Edwardsiella	tarda
Citrobacter	freundii, amalonaticus y diversus
Providencia	stuartii y alcalifaciens
Proteus	vulgaris, mirabilis, morganii y rettgeri
Salmonella	enteritidis, typhi y cholerasuis
Shigella	flexneri, dysenteriae, boydii y sonnei
Yersinia	pestis y enterocolitica

FIGURA 1. CLASIFICACION ACTUALIZADA DE ENTEROBACTERIAS

## IDENTIFICACION

La exacta identificación de los organismos descritos aquí es muy necesaria. Ellos difieren notablemente en susceptibilidad a varios agentes antimicrobianos y también en virulencia, lo cual es importante para el pronóstico y el reconocimiento del peligro potencial de contagiarse. Más aún, la identificación es esencial para investigaciones epidemiológicas de las fuentes de infección.

Como se dijo anteriormente, los principales grupos son reconocidos por una variedad de características bioquímicas, y las especies por su capacidad de fermentar carbohidratos, de utilizar otras ciertas sustancias (citrato entre otros) y de incrementar endoproductos característicos (indol de triptofano, amonía de urea).

La fermentación de la lactosa es una característica diferencial en la examinación preliminar de cultivos. Esto nos dá un mayor criterio, pues la mayoría de los patógenos entéricos son lactosa-negativos (Salmonella y Shigella). De cualquier modo, varias otras enterobacterias (Proteus, Providencia, E--dwardsiella, ciertos tipos de E. coli, Enterobacter y Serratia) son también lactosa-negativos (o retardados).

Por otro lado, la rápida fermentación de lactosa, reconocida por la formación de colonias coloreadas en medio sólido conteniendo lactosa y un indicador apropiado (rojo neutro) - nos sirve bien para distinguir algunos organismos coliformes (Klebsiella y Citrobacter). Algunas muestras de Arizona, parecidas en patogenicidad a Salmonella, son también lactosa-positivas.

tivas.

La producción de cápsula dá incremento a colonias grandes mucoides (Klebsiella pneumoniae y Enterobacter aerogenes), que son fácilmente distinguidas de las usuales variedades lisas.

Los bacilos entéricos son resistentes a la inhibición de ciertos pigmentos bacteriostáticos (verde brillante) y componentes de superficie activa (sales biliares), comparándolos con la mayoría de las bacterias grampositivas.

Crece rápidamente en medios ordinarios bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas. La mayoría crecerá en un simple medio sintético, a menudo con una sencilla fuente de carbono. Utilizan la glucosa fermentativamente, reducen nitratos a nitritos y dan una reacción oxidasa negativa. Además fermentan otros carbohidratos.

Medios selectivos, como el agar de MacConkey, facilitan grandemente el aislamiento de estos bacilos entéricos de cultivos de heces.

Shigella y Salmonella son menos sensitivos que los organismos coliformes a la inhibición por el citrato.

Un medio de múltiple azúcar es razonablemente satisfactorio para la identificación preliminar. La prueba de producción de gas debe hacerse en tubos cerrados especiales.

E. coli forma colonias redondas y lisas, con bordes bien definidos. Es hemolítica en gelosa-sangre. Al igual que el Enterobacter, descompone muchos carbohidratos con producción de ácido y gas. Produce  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  a partir de glucosa, pero el Enterobacter produce el doble de estos. E. coli produce indol en caldo conteniendo triptofano y dá un pH inferior a 4.5, por

lo que es rojo de metilo positiva. En el medio MAC o en EMB - E. coli tiene un brillo metálico fácilmente visible.

Las colonias de Enterobacter son más mucoides.

Las colonias de Klebsiella son más grandes, muy mucoides y tienden a confluír cuando la incubación se prolonga.

Proteus no fermenta la lactosa, descompone la urea con liberación de amoníaco y tiende a diseminarse rápidamente sobre la superficie en medios sólidos. No crece bien en un medio con pH ácido.

Las Salmonella crecen fácilmente en los medios de cultivo ordinarios, pero no fermentan la lactosa, la sacarosa, ni la salicina. Forman ácido y generalmente gas a partir de glucosa, maltosa, manitol y dextrina. Son resistentes a la congelación, a verde brillante, a tetrionato y a desoxicolato sódicos, tales compuestos inhiben a los coliformes, por lo que son útiles para el aislamiento de Salmonella.

Las Shigella crecen mejor en anaerobiosis. Forman colonias redondas, convexas y transparentes, de bordes enteros, que alcanzan un diámetro de cerca de 2 mm en 24 horas. No fermentan la lactosa, por lo que permanecen incoloras. Todas fermentan la glucosa, ninguna la salicina. Solo Sh. sonnei no fermenta la lactosa. Forman ácido a partir de carbohidratos. Sh. sonnei y Sh. flexneri fermentan manitol y Sh. dysenteriae no.

La observación al microscopio de enterobacterias es muy útil. Se observan como bacilos gramnegativos muy similares entre sí todas las enterobacterias, por lo que su observación microscópica nos sirve para saber que sí son enterobacterias, más no para conocer género y especie. Los coliformes pueden -

formar cadenas. En cultivos desfavorables (con antibióticos - por ejemplo) aparecen formas filamentosas largas. Las cápsulas son raras en E. coli, más frecuentes en Enterobacter, --- grandes y regulares en Klebsiella, ésta última es inmóvil. -- Las Shigella son no capsuladas y delgadas, inmóviles, en cultivos jóvenes pueden presentarse formas cocobacilares.

## TOXINAS Y ESTRUCTURA ANTIGENICA

Todos los procesos patológicos causados por las enterobac<sup>terias</sup> estan dados por la acción de sus endotoxinas, las cuales son biológicamente menos tóxicas que las exotoxinas que producen los microorganismos grampositivos.

La alteración funcional producida por todas las endotoxinas es semejante, sin que influya su origen.

Las endotoxinas son lipopolisacáridos complejos derivados de la ~~membrana~~ <sup>PARED</sup> de la célula bacteriana y liberada por la lisis de la misma y en ocasiones durante el crecimiento activo. Las substancias son termostables y su peso molecular se ha estimado entre 100,000 y 900,000.

La contribución de la endotoxina es mayor cuando hay invasión extensa en sangre y tejidos, porque la liberación de la endotoxina ocurre más fácilmente.

La toxicidad se debe a que ataca las membranas celulares del huésped por respuesta inmunológica.

Las endotoxinas pueden llegar a alterar las células óseas y a las células epiteliales (Page R.C.).

Son potentes en pequeñas cantidades y pueden actuar lejos del sitio de su formación.

La contienen las bacterias patógenas y no patógenas.

Continuamente el hombre produce anticuerpos contra los múltiples determinantes antigénicos de lipopolisacáridos y se está estableciendo una hipersensibilidad de tipo retardado. Un título elevado de anticuerpos para el centro de polisacáridos puede proteger al humano contra el choque y la muerte de



bida a bacteremias causadas por bacterias gramnegativas.

Algunas infecciones confieren inmunidad, pero es poco lo que todavía se sabe al respecto.

En cuanto a estructura antigénica (Figura 2), cuatro clases de antígenos son importantes en la identificación serológica de las enterobacterias.

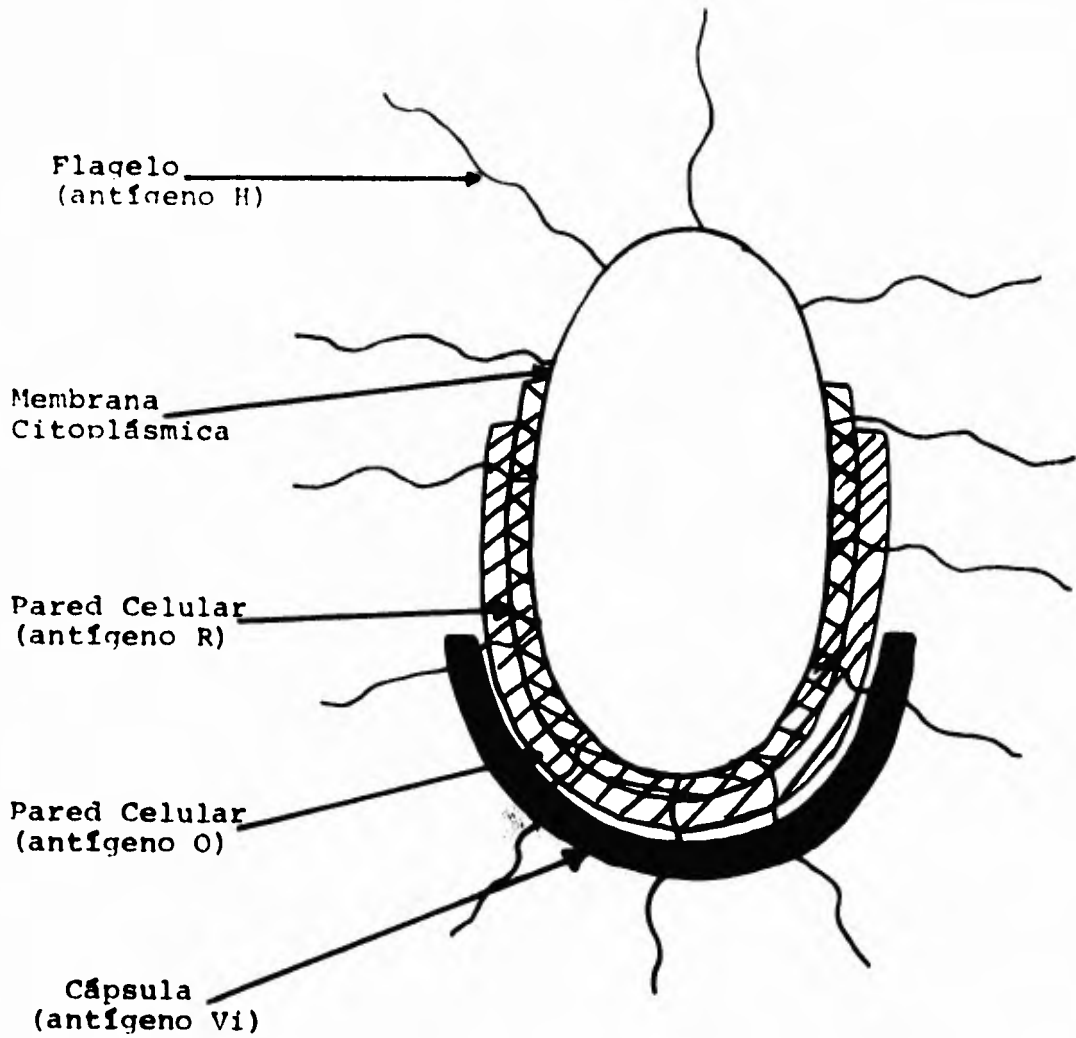
Estos antígenos han sido llamados: R, O, H y K. Los cuales están compuestos por complejos, ya sea de carbohidratos, proteínas o carbohidrato-lípido.

El antígeno R es el centro antigénico de la pared celular en las enterobacterias. Constituye la endotoxina. Las colonias que lo contienen tienen una superficie rugosa.

El antígeno O se presenta en las bacterias sin flagelos. Los antígenos O son cadenas de carbohidratos que se extienden por fuera de los antígenos R.

El antígeno H o flagelar es un antígeno proteínico, es inactivado por temperaturas mayores de 60°C, así como también por el alcohol y los ácidos. Los anticuerpos contra estos antígenos son predominantemente IgG, no así en los antígenos O, que son IgM.

El antígeno K es un antígeno capsular polisacárido. En Salmonella typhi (Figura 2) se le llama antígeno Vi. Se encuentran presentes en la periferia de la bacteria, en la cápsula - específicamente y además del calentamiento a 60°C son también sensibles a los ácidos y al fenol. Los microorganismos que lo poseen tienden a ser mucho más virulentos que aquellos que no lo poseen.



**FIGURA 2. ESQUEMA DE SALMONELLA TYPHI MOSTRANDO ESTRUCTURA ANTIGENICA.**

## PATOGENIA Y PATOLOGIA

Estos organismos solían tener poca virulencia o ser completamente no patogénicos, y ahora han sido incrementadamente asociados con múltiples enfermedades. Las infecciones endógenas debidas a dichos microorganismos y las infecciones nosocomiales (adquiridas en hospitales) representan ahora una gran proporción de serias infecciones bacteriales. Desde la mitad de los 50s la frecuencia de infecciones estafilocócicas, estreptocócicas y neumocócicas han disminuído notablemente; --- mientras que la incidencia de infecciones debidas a enterobacterias y otros bastones gramnegativos se ha incrementado mucho.

Las endotoxinas responsables de todas las alteraciones son captadas por las células endoteliales o reticuloendoteliales y son degradadas o neutralizadas.

En toda la secuencia patológica se observan los siguientes signos: fiebre, leucopenia, hipoglucemia, hipotensión y choque, perfusión alterada de órganos esenciales, coagulación intravascular y muerte.

Fiebre.- Las infecciones pueden provocar un desequilibrio en los centros termorreguladores en el hipotálamo y estimular la producción de fiebre. Estos ataques actúan sobre diferentes células (granulocitos, monocitos y otros) y resultan en la liberación de pirógenos que a su vez ajustan a un control más alto al centro termorregulador, (Figura 3).

Leucopenia.- La bacteremia causada por estos microorganismos va a menudo acompañada de una disminución en el recuento total de leucocitos, por debajo de la cifra normal, esto es -

ACTIVADORES

CELULAS

ENDOTOXINA

VIRUS

BACTERIAS

ESTEROIDES

COMPLEJOS AG-AP

LINFOCITOS T

SENSIBILIZADOS



GRANULOCITOS

MONOCITOS

MACROFAGOS

OTROS



PIROGENO ENDOGENO



CENTRO

TERMORREGULADOR

EN EL HIPOTALAMO

FIEBRE



FIGURA 3. DIAGRAMA DE PRODUCCION DE FIEBRE

en la fase inicial y coincide con la elevación de temperatura. También ocurre una leucocitosis secundaria posteriormente.

Hipoglucemia.- Las endotoxinas estimulan la glucólisis en muchos tipos de células y conducen a una disminución de la -- glucosa en sangre.

Hipotensión y choque.- Al principio de la bacteremia puede haber vasoconstricción arteriolar y venular diseminadas se guidas de dilatación vascular periférica, aumento de la per-- meabilidad vascular, disminución del retorno venoso, disminu-- ción del gasto cardíaco, estancamiento de la microcirculación y vasoconstricción periférica, que traen como consecuencia una baja de la presión arterial y posteriormente un choque.

Perfusión alterada de órganos.- Como resultado de las --- reacciones vasculares, hipotensión y choque, los órganos vita les (riñones, corazón, hígado, pulmones y encéfalo) se ponen anóxicos y tienen un rendimiento inadecuado.

Coagulación intravascular diseminada.- Constituye una --- complicación frecuente de la bacteremia por los organismos - gramnegativos. Las endotoxinas activan el factor XII (o de Ha geman), y por lo tanto es puesta en movimiento la cascada de la coagulación, la cual culmina en la conversión de fibrinóge no a fibrina.

Muerte.- Puede ocurrir la muerte como resultado de la dis función masiva de órganos. No está relacionada directamente - con la cantidad de endotoxina que pueda hallarse circulando - en sangre.

Las embarazadas con infecciones urinarias producidas por bacterias gramnegativas pueden tener partos prematuros y oca-

sionar la muerte de los vástagos.

Cabe mencionar que la serie de signos y síntomas mencionados anteriormente varían en grado según el caso.

Las bacterias coliformes, por lo general, no provocan enfermedad en el intestino y pueden incluso contribuir a su funcionamiento normal y a la nutrición. Se transforman en patógenos cuando alcanzan tejidos fuera del intestino, particularmente vías urinarias, biliares, respiratorias, peritoneo y meninges, provocando la inflamación de estos sitios. Cuando las defensas normales del huésped son inadecuadas, ya sea durante algunos periodos de la vida, en padecimientos o en empleo de catéteres uretrales a permanencia, pueden incluso alcanzar la corriente sanguínea y causar septicemias. Algunas cepas de E. coli parecen provocar ciertos brotes de diarreas infantiles, especialmente en las salas de hospital de recién nacidos, otras cepas de la misma provocan diarreas agudas, otras provocan inflamación en el intestino parecida a la producida por disentería por Shigella. Pero los padecimientos más comunes causados por E. coli son los del tracto urinario. El organismo puede, presumiblemente, pasar a los conductos urinarios y riñones por vía hematógica o linfática, pero normalmente sucede en forma ascendente, debido a la sepsis de catéteres; es particularmente común en las mujeres. Cuando el conteo bacterial de la orina es mayor de 100,000 bacterias/ml, la infección del tracto urinario suele estar presente.

Klebsiella pneumoniae es el agente causal responsable de una pequeña proporción (3%) de neumonías bacterianas. Provoca una extensa consolidación hemorrágica necrosante del pulmón,-

la cual, si no es tratada, provoca un elevado riesgo de mortalidad; ocasionalmente produce infecciones en las vías urinarias, enteritis en los niños y bacteremias con lesiones focales en paciente debilitados. K. ozaenae ha sido aislada de la mucosa nasal en la ocena, enfermedad caracterizada por atrofia progresiva y fétida de las mucosas. K. rhinoscleromatosis se ha aislado del rinoscleroma, un granuloma destructivo de la nariz y faringe.

Arizona, Citrobacter y Edwardsiella se parecen a Salmonella y pueden provocar enteritis y septicemia, además de infecciones urinarias.

Serratia ocasiona "superinfecciones", neumonías y septicemias.

Las especies Providencia se encuentran en la flora intestinal normal, pero ocasionalmente pueden producir alteraciones diarreicas.

Proteus ha sido culpado de las diarreas de verano en los niños; P. rettgeri y P. morganii se encuentran en las infecciones de los hospitales.

Enterobacter es a menudo aislado de esputo después de terapia con antibióticos y también es aislado de infecciones urinarias y de heridas infectadas.

En todas las formas de infecciones por Salmonella los organismos entran por vía oral y producen: fiebres intestinales, septicemias y gastroenteritis. Los organismos alcanzan el intestino delgado por ingerir alimentos o bebidas contaminados, a partir del cual penetran en los linfáticos intestinales, -- llegan al torrente sanguíneo y se diseminan a muchos órganos, -

incluyendo riñones e intestinos. Tales organismos son arrojados en las heces. La dosis infectante para el hombre es de -- 100,000 microorganismos. Todo esto sucede en las fiebres intestinales, y las lesiones más importantes son: hiperplasia y necrosis del tejido linfoide, hepatitis, necrosis focal del hígado, inflamación de la vesícula biliar y ocasionalmente de otros sitios; estas son las fiebres tifoidea y paratifoidea. En las septicemias, a la infección por vía oral le sigue la invasión inmediata de la sangre, generalmente sin ser antecedida de infección intestinal. Estos microorganismos tienden a causar supuraciones focales, abscesos, meningitis, osteomielitis, neumonías y endocarditis, especialmente en pacientes debilitados.

En la gastroenteritis, los síntomas comienzan después de solamente 1 a 3 días de incubación, hay irritación violenta de las mucosas, y a pesar de eso no aparece infección sanguínea, ni diseminación o infección a otros órganos. Dolor de cabeza, escalofríos y dolor abdominal son seguidos de náuseas, vomitos y diarrea, acompañados de fiebre.

Las infecciones por Shigella están casi siempre limitadas al aparato digestivo. Algunas Shigella pueden causar disentería bacilar. El proceso patológico es casi siempre una invasión del epitelio de la mucosa, microabscesos de la pared del intestino grueso y del ileon terminal, dando lugar a una necrosis de la mucosa, ulceración superficial, hemorragias y -- formación de pseudomembrana en las áreas ulceradas. A medida que el proceso continúa, el tejido de granulación llena las --



Úlceras y se forma tejido cicatrizal. Hay ataques repentinos de espasmos abdominales, diarreas y fiebre.

## TRATAMIENTO

El tratamiento de las infecciones producidas por estos organismos se hace a menudo muy difícil por la resistencia que presentan a la mayoría de los agentes antimicrobianos y por la presencia de otras serias alteraciones en los pacientes.

No se cuenta con un sólo tratamiento específico.

Las sulfonamidas, la ampicilina, el cloramfenicol, las tetraciclinas, las polimixinas y los aminoglucósidos tienen un marcado efecto antibacteriano contra el grupo coliforme, pero las variaciones de susceptibilidad de cepas son grandes y es esencial determinar en el laboratorio la sensibilidad a los antibióticos de la cepa aislada, por medio del antibiograma.

Serratia con frecuencia es resistente a todos los antimicrobianos, excepto a la gentamicina.

Escherichia coli es sensible a las cefalosporinas y carbencilinas, pero la resistencia a estos es frecuentemente encontrada. Para terapia supresiva de largo tiempo en infecciones del tracto urinario, nitrofurantoina, ácido nalidixico y sulfonamidas son comunmente usadas.

Todos los agentes tóxicos (kanamicina, gentamicina, polimixina, estreptomycin y cloramfenicol), deben ser empleados sólo si las otras formas de tratamiento fallan, o en infecciones sistémicas que atenten contra la vida. Todos los agentes anteriores se usan contra la klebsiella, al igual que contra el Enterobacter, con el que también se puede utilizar tetraciclinas, ácido nalidixico y nitrofurantoina, pues es resistente a la ampicilina.

Gentamicina, kanamicina y cloramfenicol se usan contra la Edwardsiella y el Citrobacter.

Proteus no es resistente a la ampicilina, en cambio Providencia sí, con el que se usan otros agentes más fuertes y tóxicos.

En la diarrea grave producida por Salmonella se usa el -- sulfametoxazol y algunas veces la ampicilina dá resultado.

Las sulfonamidas, ampicilinas, estreptomycinas, tetraciclinas y el cloramfenicol son a menudo bacteriostáticos contra - las Shigella, pero el más efectivo está también el sulfametoxazol.

La restitución de líquidos y electrolitos es básica en -- las diarreas.

El tratamiento sintomático es parte de la terapia en casos de infecciones por enterobacterias.

Algunas condiciones que predisponen a las infecciones por estos microorganismos deben ser corregidas quirúrgicamente, - como por ejemplo: obstrucción de vías urinarias, perforación de órganos abdominales o la bronquiectasia del pulmón.

## PREVENCION

En este caso nos enfrentamos con microorganismos que comúnmente se presentan en infecciones nosocomiales y las medidas que se deberán tomar en los hospitales y centros de salud en general tendrán que ser rígidas, tales como: asepsia estricta del campo operatorio (en caso de cirugía) y del ambiente que rodee al paciente, correcta esterilización del equipo e instrumental, desinfección y restricción en la aplicación o prescripción de terapéutica intravenosa y esmerada asepsia del sistema urinario.

En un estudio hecho en la ciudad de México (6), se demostró la presencia de múltiples enterobacterias, como Salmonella (todas sus especies), Escherichia coli, Shigella y Klebsiella, entre otras. Y se confirmó la elevada incidencia de infecciones intestinales debidas a esta contaminación. Estas infecciones tienen una tasa elevada de mortalidad infantil.

Una importante medida preventiva es impedir la contaminación del agua, utilizando medidas sanitarias como: la purificación del agua potable (puede ser por ebullición), desinfección de tinacos y utilización de filtros, ya sea caseros o a nivel urbano.

En la leche cruda es normal encontrar enterobacterias, sobre todo las coliformes; desgraciadamente se encuentran a menudo en la leche que se supone pasteurizada.

La presencia de enterobacterias en el agua y la leche se debe interpretar de modo diferente (16); en el agua sugiere una contaminación por heces fecales y en la leche significa -

un descuido al manipular el producto. Se recomienda una estricta pasteurización de la leche, una escrupulosa manipulación de la misma y el uso de recipientes no contaminados, ya sea para su transporte o en el momento de ingerirla.

Se debe establecer también un control sanitario de los -- alimentos, para protegerlos de animales que excretan enterobacterias. Las aves, carnes y huevos infectados se deben cocer - perfectamente bien.

A las personas que sean portadoras no se les deberá permitir que manejen los alimentos, y según la magnitud de su in-- fección se les deberá aislar.

Se deben combatir las moscas y tener control sobre las -- aguas negras.

Vacunas contra estos microorganismos estan apenas siendo investigadas.

C A P I T U L O   I I

E N T E R O B A C T E R I A S

E N C A V I D A D   B U C A L

## FLORA NORMAL

Al nacer, la cavidad bucal es estéril. El producto puede contaminarse al pasar por el conducto vaginal, además por la comida u otros contactos.

En los primeros meses predomina una flora aerobia, y al erupcionar los dientes se presentan ya los microorganismos - anaerobios. En el transcurso de los años se van presentando muchos tipos de bacterias, principalmente cocos grampositivos.

Casi ningún autor menciona a las enterobacterias como -- componentes de la flora normal bucal, y los que lo hacen, hablan de una proporción muy baja que llega a ser insignificante (5) y que muchas veces se considera como flora transitoria.

En la orofaringe se mencionan múltiples bacterias como flora indígena, pero las enterobacterias no son nombradas.

Todo esto último tiene cierta lógica, pues el habitat normal de estos microorganismos es el intestino, aunque muchas veces se encuentre fuera de este lugar.

La flora normal del cuerpo suele tener también una función, que es la de dar resistencia, o sea, aumentar las defensas del huésped; hasta ahora no se ha demostrado que las enterobacterias efectúen una función de este tipo fuera del intestino y mucho menos en la cavidad bucal y por lo tanto no hay razón - para sospechar que formen parte de la flora microbiana normal de la boca.

## ADHERENCIA

"Para que un agente biológico pueda llegar a producir una infección activa en el huésped humano, es críticamente importante que este microorganismo se ponga en contacto con alguna superficie del huésped, que suele ser una mucosa" (1).

Ya se han hecho varios estudios con respecto a la adherencia bacterial a las células mucosas, pero muy pocos específicamente referidos a las células mucosas de la boca.

Sugarman y Donta (18), mencionan que la adherencia de enterobacterias a las células mucosas de la boca es un importante paso en ciertas infecciones de los tractos genitourinario, gastrointestinal y respiratorio, esto último se vió en pacientes hospitalizados. Se encontró que tenían capacidad de adherencia: Klebsiella pneumoniae, Enterobacter aerogenes, Escherichia coli y Proteus Mirabilis; y que esta capacidad variaba de una a otra bacteria. Hallaron también que cuando se incrementaba el número de bacterias, se incrementaba la unión a las células. La saturación de los sitios de unión de las células bucales con la bacteria ocurría cuando el 10% de la superficie bucal celular era ocupada. Se supo también que el enlace de cada bacteria en especial era competitivo, o sea, que la adherencia de una bacteria disminuye la adherencia de otra, debido a que los sitios receptores para diferentes especies son idénticos o estrechamente iguales; por ejemplo: la adherencia de Enterobacter aerogenes a las células bucales fué disminuída por la anterior adherencia de bacilos de la misma muestra de E. aerogenes o de muestras de Klebsiella pneumoniae.



Candy et al. (2), estudiaron también lo concerniente a la adherencia, en este caso de enterobacterias obtenidas de las heces o del intestino delgado de infantes con diarreas agudas y prolongadas, a las células epiteliales bucales. Confirmaron la adherencia por microscopio electrónico de transmisión. Observaron que las enterobacterias que se adherían al intestino también lo hacían a las células bucales. En el 32 a 73 % de células bucales se adhirieron E. coli, Proteus y Enterobacter, esto fué en pacientes con diarrea prolongada. En pacientes con diarrea aguda o en adultos sanos el resultado fué de menos del 10%. También se observó que aumenta la adhesión de células bucales en pacientes con infección urinaria. La adhesión fué -- parcial o totalmente inhibida por una cantidad determinada de D-manosa; la razón de esto se explicará más adelante. Estos autores concluyen que las células epiteliales bucales les proveen un simple modelo de estudio de adherencia intestinal bacterial en el hombre. La ventaja de su estudio radica en que -- en su sistema la bacteria puede ser estudiada con células del mismo sujeto del que fueron aisladas.

Ofek et al. (15), reconocen también que la colonización por bacterias en los tejidos humanos mucosos es un paso importante en el proceso infeccioso. Mencionan que para colonizar la mucosa, primero deben las bacterias unirse a las células -- epiteliales de estos tejidos, pues de no ser así, son descartadas por el huésped (estornudando o tosiendo). En las bacterias gramnegativas, la unión es mediada por los "pili", que son una especie de pelos o fibras pequeños que se adhieren a las células bucales. En cuanto a los sitios receptores, men--

cionan haber encontrado en Escherichia coli los responsables de esta unión, que son receptores de manosa presentes en la superficie de dicha bacteria. Otro punto importante es que la saturación de los sitios de unión de la superficie bacteriana por azúcares previene la adherencia de estos organismos al receptor de la membrana epitelial, el cual contiene una estructura de manosa o afín a esta. Los mejores resultados se obtuvieron con metaperiodato de sodio, que oxida a la célula epitelial e inhibe totalmente la adherencia. Buenos resultados se obtuvieron también con Concanavalin A y con D-manosa, que inhiben en gran proporción la unión. Sus resultados sugieren que la ligadura de E. coli a las células epiteliales es mediada por --- sustancias manosa específicas semejantes a las lectinas presentes en la superficie de dicha bacteria, las cuales se ligan a los sitios receptores afines a la manosa en las células mucosas. Refieren que la inhibición antes mencionada se debe a --- que dichas sustancias compiten a la manosa unida a la membrana epitelial, para disociar los organismos de las superficies celulares. Concluyen que el hallazgo de las sustancias competitivas puede dar una aproximación para aclarar el mecanismo de adherencia bacteriana y el cómo evitarlo.

Se ha estudiado también la adherencia bacteriana del tracto respiratorio en la colonización bacilar (21). Se encontró Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli y Proteus mirabilis, en pacientes de 52 años promedio, un índice elevadísimo era de varones (97%), los fumadores eran muy comunes y se les había dado drogas antimicrobianas antes al 60%. Todo fué en pacientes antes operados. Preoperatoriamente no habían sido colonizados.

## PATOLOGIA

Se ha hablado ya de las diversas alteraciones que causan las enterobacterias en distintas partes del cuerpo, pero poco se ha mencionado a estos microorganismos como productores de enfermedad en la boca.

Aún así, cada día se habla más de la presencia de enterobacterias en las infecciones orofaciales.

Un incremento en el número de bacterias gramnegativas puede estar asociado con un aumento de la posibilidad de infecciones de la región orofacial por este grupo de bacterias.

Escherichia coli y especies de Proteus se aíslan en un promedio de 4% cada una en infecciones pulpares y periapicales.

Las enterobacterias son difíciles de eliminar en las infecciones que involucran pulpa. El dolor resulta frecuentemente cuando estos organismos degradan las proteínas de los tejidos y posteriormente producen gas, de lo que son particularmente capaces los coliformes.

Hay algunos encontrados no en la misma proporción que a los que se considera como causantes, pero sí son hallados con un grado de regularidad. Como ejemplo tenemos a: Serratia marcescens que ha sido aislada de algunas infecciones periapicales.

Klebsiella pneumoniae ha sido aislada de abscesos vestibulares ocasionados por una infección periapical o paradontal, y se considera que se debe aparentemente a este microorganismo.

De las nombradas celulitis, que presentan un notable edema

y que son causadas por infecciones periapicales o parodontales, se ha aislado Escherichia coli y especies de Klebsiella.

Mientras Staphylococcus aureus y Staphylococcus epidermidis (albus) son responsables del 80 a 90% de casos de osteomielitis, algunas otras bacterias son responsables de las osteomielitis restantes, entre ellas primordialmente E. coli y después Enterobacter, Proteus y Klebsiella.

Se ha observado también que E. coli puede formar un granuloma en presencia de fagocitosis defectuosa.

La angina de Ludwig, que es una infección muy virulenta del tejido conjuntivo del piso de la boca, puede ser, en un momento dado, causada por Escherichia coli.

De infecciones de tejidos blandos se han aislado también E. coli, Enterobacter, Proteus y Klebsiella.

En infecciones extensas del espacio canino se han hecho frotis y se ha observado la particular presencia de Citrobacter freundii, como único agente causal.

En pacientes con infecciones provocadas por una pericoronitis postextracción de tercer molar, se ha aislado como agente etiológico al Enterobacter cloacae. Así como también especies de Serratia.

En la parotiditis de origen bacterial se ha mencionado haber encontrado Klebsiella, Proteus y Escherichia coli.

Durante las últimas dos décadas, las infecciones dentales peligrosas y que atentan contra la vida han sido relacionadas con bacterias tales como E. coli y especies de Serratia y klebsiella.

Bacteremias por enterobacterias e infecciones de heridas

han sido observadas después de procedimientos quirúrgicos tales como: reparación del trauma facial, reconstrucción de mandíbula y extracción dentaria.

En la última década han sido encontradas E. coli, Proteus, Serratia, Enterobacter y Klebsiella. Y el porcentaje de fatalidad por sepsis de enterobacterias es KES (Klebsiella, Enterobacter y Serratia) 38% y Eshcerichia coli 44%.

En infecciones nosocomiales se mencionan las siguientes bacterias en orden de frecuencia: 1.-E. coli. 2.- Proteus.3.- Klebsiella 4.- Enterobacter.

C A P I T U L O    I I I

M O D E L O

E X P E R I M E N T A L

Para poder aseverar algo, sobre todo cuando se trata del cuerpo humano, se debe primero experimentar, o sea, se debe probar prácticamente.

Un experimento es un cuestionamiento que se hace a la naturaleza e implica siempre una hipótesis, término que significa: "La aceptación provisional de una afirmación acerca de algún hecho, o de alguna relación funcional, como cierta, aún cuando no tenga base experimental adecuada y suficiente"(17).

Las hipótesis deben ser siempre susceptibles de confrontación; pueden establecerse otras que sean antagonistas a la anterior.

Tenemos que existe la siguiente hipótesis: "Las enterobacterias se encuentran exclusivamente en los tractos urinario, respiratorio e intestinal".

Seguramente, las enterobacterias fueron observadas primero en el intestino, de ahí su nombre, y más tarde en las vías -- respiratorias y urinarias; pero, hasta ahora, en ningún texto de microbiología se menciona haberlas encontrado en boca, aunque publicaciones de ensayos científicos recientes mencionan ya haberlas encontrado en la cavidad bucal. Debido a esto y a los datos aportados en este estudio, cabe la posibilidad de establecer una nueva hipótesis que rechaze la anterior y que podría ser: "Las enterobacterias se encuentran presentes en cavidad bucal".

## OBJETIVOS

Todo estudio científico debe tener uno o más objetivos, - pues son precisamente la razón de ser del mismo.

Al llevar a cabo esta investigación, se tuvieron en cuenta los siguientes objetivos:

a) Probar que las enterobacterias sí están presentes en - cavidad bucal.

b) Conocer que tipos de enterobacterias se encuentran en boca.

c) Confirmar que la boca es un medio accesible de estudio, para observar el estado de salud de la misma y el de algunas otras partes del organismo humano.

d) Someter a juicio de otros investigadores la relación - que tenga esta presencia con la colonización por enterobacterias en boca y cualquier otra parte del cuerpo.

e) Establecer que la boca es un medio favorable para la - instalación de enterobacterias, que inclusive pueden causar enfermedad en esa zona y es además vía de entrada a los lugares donde clásicamente causa patología.

f) Hacer notar que las condiciones ambientales que nos ro - dean pueden ser, en algunos casos, las causantes de que se -- presenten enterobacterias en boca, especialmente el agua con - taminada y los factores .yatrógenos.



**MATERIALES**

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cajas de Petri
- Tubos de ensayo
- Matraces de bola
- Vasos de precipitado
- Lámpara de alcohol
  
- Gasa
- Algodón
- Hisopos
- Abatelenguas
- Toallas de papel
- Papel aluminio
- Papel testigo
- Masking Tape
- Lápiz graso
- Jeringa desechable
- Asa
  
- Mechero de Bunsen
- Báscula granataria
- Microscopio
- Refrigerador
- Estufa de incubación
- Autoclave
  
- Colorantes para tinción de Gram
- Medios de cultivo
  - + Agar de eosina y azul de metileno(EMB)
  - + Agar de MacConkey(MAC)
- Enterotubos(incluyendo: instructivo, cuaderno para resultados, código computarizado y cartulina para identificación)
- Reactivos complementarios
  - + Reactivo de Kovac
  - + Reactivo Voges-Proskauer

## PROCEDIMIENTOS

El estudio se realizó en veinticinco pacientes que asis--  
tían a la clínica periférica de la Facultad de Odontología -  
de la UNAM en Padierna Contreras.

Dichos pacientes fueron escogidos al azar, pero todos ha-  
bitaban en zonas aledañas a la clínica.

A todos los pacientes se les realizó una historia clínica  
(Figura 3A), en la que se les preguntó todos sus datos perso-  
nales, sus antecedentes patológicos y no patológicos; se inves-  
tigó si tenían algún padecimiento en ese momento y en caso de  
existir se les preguntó todo al respecto. Se les interrogó a-  
cerca de los aparatos y sistemas para poder detectar alguna -  
alteración de la que ellos no estuvieran enterados. Se anota-  
ron todos sus hábitos, pero sobre todo acerca del agua que to-  
maban, su origen y forma de ingerirla. En cada historia clíni-  
ca se apuntó un número que correspondería a sus respectivos -  
frotis y cultivos.

### TECNICA

1.- Se prepararon los siguientes medios de cultivo: agar  
de eosina y azul de metileno y agar de MacConkey, de acuerdo  
a las indicaciones del fabricante.

2.- Las placas fueron divididas a la mitad con un lápiz  
graso y a cada una de las mitades se le membretó con una de -  
las secciones de la boca que se seleccionaron para el muestreo,  
estas son: carrillo (cualquier región), paladar (en la unión  
del duro y el blando), surco gingival (caninos inferiores), -  
lengua (región media), piso (cualquier región) y zona retromo-  
lar (inferior); en todos los casos se tomó muestra indistinta

HISTORIA CLINICA

NOMBRE DEL PACIENTE: \_\_\_\_\_ EDAD: \_\_\_\_\_  
SEXO: \_\_\_\_\_ DOMICILIO: \_\_\_\_\_  
TELEFONO: \_\_\_\_\_ PROCEDENCIA: \_\_\_\_\_ EMPLEO: \_\_\_\_\_  
ESTADO CIVIL: \_\_\_\_\_

ANTECEDENTES

HEREDO FAMILIARES: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

PERSONALES NO PATOLOGICOS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

PERSONALES PATOLOGICOS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

PADECIMIENTO ACTUAL: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

APARATOS Y SISTEMAS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

FIGURA 3A. COPIA DE LA HISTORIA CLINICA QUE SE LE HIZO A TODOS LOS PACIENTES

mente del lado derecho o izquierdo.

3.- A cada paciente se le tomaron muestras de las seis zonas antes mencionadas, con hisópos, ayudándose de abatelenguas, para evitar la contaminación del hisopo con cualquier otra parte que no fuera la deseada.

4.- Con las muestras, se hizo primero un frotis original y después se sembró en los medios de cultivo (EMB y MAC).

5.- Todos los cultivos se incubaron a 37°C. Realizándose observaciones a las 24, 48 y 72 horas y haciéndose un frotis de cada una de las colonias desarrolladas.

6.- Tanto los frotis originales como los de colonias en cultivo fueron teñidos por el método de Gram.

7.- Los frotis fueron observados al microscopio y en base a esto y a la observación macroscópica de las colonias desarrolladas, se seleccionaron las colonias sospechosas de ser enterobacterias, para su posterior identificación mediante pruebas bioquímicas específicas.

Para esto último se utilizó el Enterotubo II (Figura 4), de los laboratorios ROCHE, que consiste en un tubo de plástico dividido en compartimientos, los cuales contienen doce diferentes medios que encierran un alambre inoculador. Este tubo permite la inoculación simultánea de todos los medios y ejecución a la vez de 15 pruebas bioquímicas: glucosa, producción de gas, lisina, ornitina, H<sub>2</sub>S, indol, adonitol, lactosa, arabinosa, sorbitol, Voges-Proskauer, dulcitol, fenilalanina, urea y citrato.

La fermentación y la descarboxilación bacteriana, que producen un cambio en el pH, así como la producción de substan --

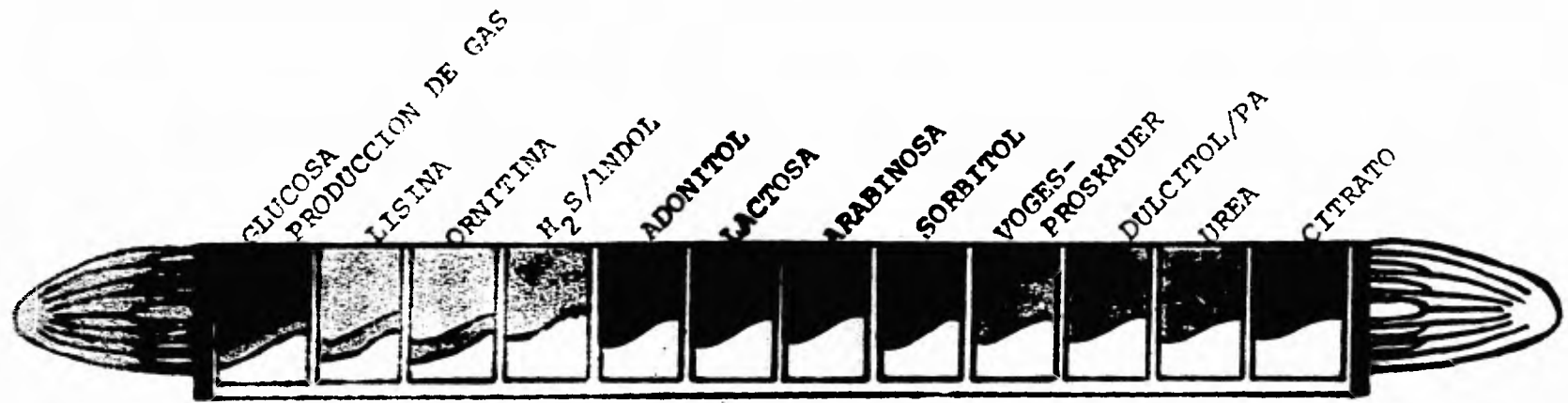


FIGURA 4. ENTEROTUBO II. UTILIZADO PARA LA IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS

cias por parte de las bacterias, ocasionan, en caso de ser positiva la reacción, un cambio de color en el medio correspondiente (Figura 5).

Para usar el Enterotubo se tienen que seguir los siguientes pasos: remover ambas tapas, en un extremo del tubo se observará la punta del alambre inoculador (asa) y en el otro extremo el mango. No se debe flamear el alambre. Recoger junto a la flama del mechero una colonia bien aislada directamente con la punta del alambre. Se inocula dando vueltas al alambre y jalándolo a través de todos los compartimientos. Se reinserta el alambre (sin esterilizar) usando un movimiento de giro, a través de todos los compartimientos y se jala de nuevo hasta que la punta quede en el compartimiento de  $H_2S$ /indol. Se rompe, por doblamiento, la parte del alambre que sobresale, se desecha el tramo que se rompió y se tapa el tubo de nuevo en ambos extremos. La porción del alambre remanente que queda en el tubo mantiene las condiciones anaeróbicas necesarias para la fermentación de glucosa, producción de gas y descarboxilación de lisina y ornitina. La parte del alambre que queda en el compartimiento de  $H_2S$ /indol no interfiere con la prueba. Después, se despoja al tubo de la cintilla azul que se encuentra a un lado del tubo, dejando así descubiertos varios orificios que mantienen las condiciones aeróbicas para los compartimientos de: adonitol, lactosa, arabinosa, sorbitol, Voges-Proskauer, dulcitol/fenilalanina, urea y citrato. Se debe después deslizar la tira plástica transparente que rodea al tubo, sobre el compartimiento de glucosa, para evitar que se desprenda cualquier cantidad de cera estéril que se en

CITRATO	VERDE	CITRATO	AZUL PROFUNDO
UREA	NARANJA	UREA	VIOLETA
P. A.	VERDE	P. A.	NEGRO O GRIS
DULCITOL	VERDE	DULCITOL	AMARILLO PALIDO
V. P.	-----	V. P.	REACTIVO ROJO
SORBITOL	ROJO	SORBITOL	AMARILLO
ARAB.	ROJO	ARAB.	AMARILLO
LACTOSA	ROJO	LACTOSA	AMARILLO
ADONITOL	ROJO	ADONITOL	AMARILLO
INDOL	----	INDOL	REACTIVO ROJO
H <sub>2</sub> S	NARANJA	H <sub>2</sub> S	PRECIPITADO NEGRO
ORNITINA	AMARILLO	ORNITINA	PURPURA
LISINA	AMARILLO	LISINA	PURPURA
GAS	CERA ADHERIDA	GAS	CERA DESPRENDIDA
GLUCOSA	ROJO	GLUCOSA	AMARILLO

COLORES NO ACTIVADOS

COLORES ACTIVADOS

FIGURA 5. CAMBIOS DE COLOR QUE SUCEDEN CUANDO SE PRODUCEN REACCIONES POSITIVAS EN EL ENTEROTUBO II.

cuentra en este compartimiento y que es el testigo de la producción de gas. Se incuba luego a 35-37°C por 18 a 24 horas - el Enterotubo, recostado sobre su superficie plana y separado lo más posible de los demás tubos, para proveer la suficiente ventilación.

Más tarde, se registran todas las reacciones, ya sea si hubo cambio de color (positivas) o no lo hubo (negativas).

Con esto, se han realizado trece pruebas, y faltan otras dos: indol y Voges-Proskauer.

Para llevar a cabo la prueba del indol, se coloca al Enterotubo con el compartimiento de glucosa dirigido hacia abajo y se añaden una o dos gotas de reactivo Kovac, previamente -- preparado según las indicaciones del laboratorio, a través de la película de plástico del compartimiento de H<sub>2</sub>S/indol usando una jeringa desechable.

Para llevar a cabo la prueba de Voges-Proskauer se sigue la misma técnica anterior, sólo que aquí se añaden dos gotas de solución hidróxido de potasio-creatina y tres gotas de alfa naftol en alcohol etílico absoluto (el mismo laboratorio expide el reactivo VP ya preparado).

Si la prueba VP es positiva, el cambio de color se manifestará en un lapso de 20 minutos, no así la prueba del indol, que tarda sólo 10 segundos.

Cuando la reacción es positiva en el compartimiento de -- glucosa, el medio cambia de un color rojo a un color amarillo.

La producción de gas está evidenciada por una completa y definitiva separación de la cubierta de cera de la superficie en el medio de glucosa.



En el compartimiento de lisina hay un cambio de color de amarillo pálido a morado. Lo mismo sucede en el compartimiento de ornitina.

En el compartimiento siguiente, la producción de ácido -- sulfhídrico forma un precipitado negro a lo largo de la línea de inoculación.

En los compartimientos de adonitol, lactosa, arabinosa y sorbitol sucede un cambio de color de rojo a amarillo.

Cualquier color anaranjado en el tubo debe ser interpretado como una reacción negativa.

En el compartimiento de dulcitol, el cambio es de verde a amarillo. En este mismo compartimiento, la prueba positiva de fenilalanina diaminas produce un característico color negro.

En el compartimiento de la urea, el cambio es de amarillo a rojo púrpura.

En el lugar del citrato cambia de verde a azul profundo.

En las pruebas del indol y Voges-Proskauer, si son positivas, los reactivos Kovac y VP toman un color rojo.

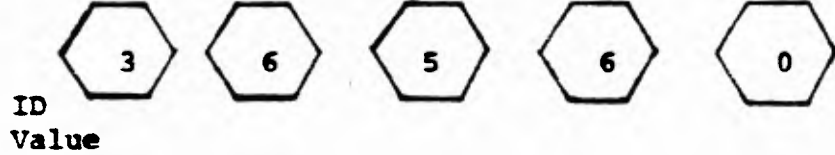
Al interpretar las reacciones positivas, se hacen las anotaciones en un cuaderno que provee el fabricante (Figura 6) - en el que cada reacción positiva de cada compartimiento corresponde a un número; los números se agrupan de tres en tres y luego se suman los números de cada grupo, para así obtener una cifra de 5 dígitos.

El fabricante también expide un código computarizado (Figura 7) en el cual cada cifra corresponde a un microorganismo, siendo así que la cifra que se obtenga de cada tubo inoculado,

ENTEROTUBE II

G L U.	G A S.	L Y S.	O R N.	H <sub>2</sub> S	I N D.	A D O N.	L A C.	A R A B.	S O R B.	D U L.	P A	U R E A	C I T.			
②	①	④	②	+1	④	+	2	①	④	②	+1	4	+	2	+	1

Confirmatory test	Result
-----	----
-----	----
-----	----



ID  
Value

79

15

13/ago/82

Escherichia coli

Culture number, Case number or  
patient number

Date

Organism identified

FIGURA 6. COPIA DEL CUADERNO CODIFICADO PARA ANOTACIONES

EN LA IDENTIFICACION DE ENTEROBACTERIAS. CON UN EJEMPLO.

ENTEROTUBE CODING AND IDENTIFICATION SYSTEM

ID VALUE	ORGANISM	ATYPICAL TEST RESULTS	IDENTIFICATION PROBABILITY	CONFIRMATORY TESTS		
36520	ESCHERICHIA COLI	ARA		VP		
36521	ESCHERICHIA COLI	ARA, CIT	0.6525	-		
	SERRATIA MARCESCENS	IND, LAC	0.3475	+		
36522	ESCHERICHIA COLI	ARA, URE				
36523	SERRATIA MARCESCENS	IND, LAC				
36524	ESCHERICHIA COLI	ARA, PA				
36530	ESCHERICHIA COLI	ARA				
36531	ESCHERICHIA COLI	ARA, CIT				
36532	ESCHERICHIA COLI	ARA, URE				
36540	ESCHERICHIA COLI	SOR				
36541	ESCHERICHIA COLI	SOR, CIT				
36542	ESCHERICHIA COLI	SOR, URE				
36544	ESCHERICHIA COLI	SOR, PA				
36550	ESCHERICHIA COLI	SOR				
36551	ESCHERICHIA COLI	SOR, CIT				
36552	ESCHERICHIA COLI	SOR, URE				
36560	ESCHERICHIA COLI	NONE		VP	MAL	DNA
36561	SERRATIA LIQUEFACIENS	IND, LAC	0.6234	V	-	+
	ESCHERICHIA COLI	CIT	0.2351	-	-	-
	ARIZONA	H <sub>2</sub> S, IND	0.1030	-	+	-
36562	ESCHERICHIA COLI	URE				
36563	ESCHERICHIA COLI	URE, CIT				

- 48 -

FIG. 7. TRANSCRIPCION DE UNA HOJA DEL CODIGO COMPUTARIZADO Y SISTEMA DE IDENTIFICACION PARA EL ENTEROTUBO II.

es buscada en el código, para obtener de ese modo la identificación exacta de la bacteria, o sea, género y especie.

Todo esto se llevó a cabo con las colonias sospechosas de ser enterobacterias.

Para su conservación, los tubos deben ser almacenados a -- una temperatura de 2 a 8°C. Cuando los tubos no inoculados -- tienen un cambio de color, quiere decir que ya no sirven, lo mismo sucede con los reactivos.

## RESULTADOS

Después de haber registrado, clasificado y cuantificado - todos los datos, tenemos que se obtuvieron los siguientes resultados:

De los veinticinco pacientes estudiados, sólo en once se encontraron enterobacterias.

La edad de los pacientes osciló entre 11 y 63 años de edad, y no hubo ningún grupo en el que no se presentaran enterobacterias.

Siete del total de pacientes presentaron padecimientos que pudieran tener relación. De esos, sólo cuatro presentaron enterobacterias.

Siete pacientes purificaban el agua que ingerían y de estos sólo en tres se encontraron enterobacterias.

Sólo seis del total de pacientes eran varones y en dos de estos se encontraron enterobacterias.

Apenas tres pacientes tenían buena higiene y resultó que dos de estos presentaron enterobacterias.

Tres de los pacientes fumaban y ninguno presentó enterobacterias.

Sólo se halló una especie de enterobacteria por cada paciente, y estas fueron:

Enterobacter agglomerans, Enterobacter cloacae, Escherichia coli, Klebsiella oxytoca, Salmonella enteritidis y Shigella (cualquiera de las cuatro especies: Sh. flexneri, Sh. sonnei, Sh. dysenteriae o Sh. boydii, pues son indistinguibles por el método que se usó).

Enterobacter agglomerans se observó en: piso de boca, lengua, zona retromolar y surco. Creció en EMB en un caso y en MAC en otros dos casos. En EMB las colonias fueron medianas y mucoides, color café obscuro. En MAC las colonias fueron rosadas y difundidas. En todos los casos el tiempo de crecimiento fué moderado, alcanzando un franco desarrollo hasta las 72 horas. Al microscopio, se observaron en los frotis abundantes bacilos cortos gramnegativos.

Klebsiella oxytoca se presentó sólo en lengua y en menor proporción en surco gingival. En uno de los casos es que se presentó creció sólo en medio MAC, y fué una colonia rosa mucoides de crecimiento rápido. El otro caso creció en ambos cultivos, creció igual en MAC y en EMB apareció una colonia mediana con brillo verde metálico. El crecimiento fué rápido, siendo que a las 24 horas las colonias habían alcanzado un crecimiento considerable. Se observaron al microscopio abundantes bacilos gramnegativos.

Escherichia coli se presentó en todas las regiones estudiadas menos en piso de boca, pero se le encontró en mayor proporción en zona retromolar y lengua. Creció en ambos cultivos, siendo que en MAC se presentó una colonia grande, rosada y rodeada de un precipitado. En EMB se observó colonias con brillo metálico verdoso a la luz reflejada. A las 24 horas ya estaban las colonias bien desarrolladas. Se observaron abundantes bacilos gramnegativos de tamaño mediano.

Shigella se encontró en todas las regiones menos lengua. Sólo creció en agar de EMB, colonias pequeñas y rojas. Hasta las 48 horas alcanzaron un tamaño considerable. Al microscopio

se observaron bacilos gramnegativos pequeños, de forma cocobacilar, eso en los frotis de cultivos jóvenes, los frotis de cultivos desarrollados se observaron como bacilos G(-) medianos.

Salmonella enteritidis se encontró sólo en paladar. Creció sólo en EMB, como colonia extensa, rosada, casi transparente. A las 24 horas alcanzó un gran desarrollo. Se observaron abundantes bacilos gramnegativos.

Enterobacter cloacae se presentó sólo en surco gingival.- Creció sólo en EMB, una colonia mediana con brillo metálico verde a la luz reflejada. Se observaron abundantes bacilos pequeños gramnegativos.

En cuanto a los padecimientos que se encontraron, fueron los siguientes: laringitis, gastritis, amigdalitis, diarrea, bronquitis, obstrucción y enfermedad renal.

La relación fué la siguiente: en la gastritis el paciente presentó Salmonella enteritidis en paladar. En la amigdalitis se encontró Escherichia coli, pero cabe mencionar que este paciente además fué sometido a traumática extracción del tercer molar inferior derecho una semana antes del muestreo, zona -- donde se encontró gran cantidad de E.coli. En la diarrea se encontró Enterobacter agglomerans (en lengua), al igual que en la obstrucción renal (parece ser que a causa de una infección), sólo que aquí el Enterobacter agglomerans se encontró en zona retromolar y surco gingival.

En los demás pacientes con padecimientos no hubo presencia de enterobacterias.

## VALORACION

El 76% de los pacientes eran del sexo femenino, por lo que no se pudo establecer una relación de equidad entre ambos sexos.

En cuanto a la edad, se encontró el mayor porcentaje de enterobacterias en el grupo de 20 a 39 años de edad, que fué del 36.4%, los otros grupos también mostraron un porcentaje considerable (Figura 8).

El 12% de los pacientes tenía buena higiene, de los cuales, las dos terceras partes (8%) presentaron enterobacterias, contra el 4% que no presentaron. De los que tenían mala higiene (88%), en el 52% no se encontraron estos microorganismos, y en el 36% sí (Figura 9).

El 72% de las personas estudiadas no purificaba el agua que ingería, y de estos, el 40% no tenía enterobacterias, contra el 32% que sí tenía.

El 12% fumaba (todos varones), y de estos ninguno presentó enterobacterias.

En el 28% de los pacientes se observó algún padecimiento relacionable, sí se hallaron enterobacterias en el 16% de estos; contra el 12% en que no se halló ninguna de estas bacterias. (Figura 11).

De todos los microorganismos presentados, el Enterobacter agglomerans fué el que se encontró en mayor proporción (27.2%), siguiéndole E. coli, Klebsiella oxytoca y Shigella (cualquier especie) (18.2%), después Enterobacter cloacae y Salmonella enteritidis (9.1%). (Figura 12).



Por último, de todas las regiones estudiadas, el surco --gingival fué el que mayor proporción de enterobacterias presentó, fué del 27.7%. Le siguen lengua, zona retromolar y paladar con 16.7%. Al final se encuentra piso de boca con 11.1%. (Figuras 13 y 14).

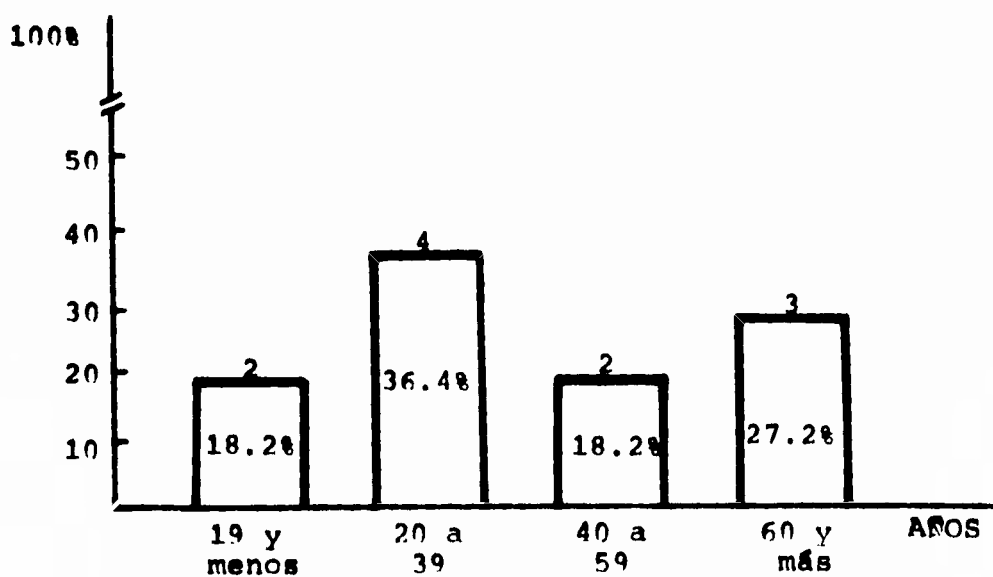


FIGURA 8. GRAFICA DEL PROMEDIO DE ENTEROBACTERIAS SEGUN LA EDAD.

No. DE PACIENTES	HIGIENE BUCAL	PRESENCIA DE ENTEROBACTERIAS	PORCENTAJE	
9	MALA	SI	36	88
13	MALA	NO	52	
2	BUENA	SI	8	12
1	BUENA	NO	4	

FIGURA 9. RELACION ENTRE HIGIENE BUCAL Y PRESENCIA DE ENTEROBACTERIAS.

No. DE PACIENTES	PURIFICACION DEL AGUA	PRESENCIA DE ENTEROBACTERIAS	PORCENTAJE	
3	SI	SI	12	28
4	SI	NO	16	
8	NO	SI	32	72
10	NO	NO	40	

FIGURA 10. RELACION DE LA PURIFICACION DEL AGUA CON LA PRESENCIA DE ENTEROBACTERIAS.

No. DE PACIENTES	ALGUN PADECIMIENTO	PRESENCIA DE ENTEROBACTERIAS	PORCENTAJE	
11	NO	NO	44	72
7	NO	SI	28	
3	SI	NO	12	28
4	SI	SI	16	

FIGURA 11. RELACION ENTRE PADECIMIENTOS Y PRESENCIA DE ENTEROBACTERIAS.

Enterobacter agglomerans	27.2 %
Escherichia coli	18.2
Klebsiella oxytoca	18.2
Shigella (cualquier especie)	18.2
Enterobacter cloacae	9.1
Salmonella enteritidis	9.1

FIGURA 12. PORCENTAJE DE ENTEROBACTERIAS AISLADAS EN BOCA

SURCO	27.7 %
LENGUA	16.7
ZONA RETROMOLAR	16.7
PALADAR	16.7
CARRILLO	11.1
PISO DE BOCA	11.1

FIGURA 13. PORCENTAJE DE FRECUENCIA DE LOS SITIOS DE INFECCION POR ENTEROBACTERIAS.

ENTEROBACTERIA	No. DE CASOS	LOCALIZACION					
		CARRILLO	PALADAR	SURCO	LENGUA	PISO	Z. RET.
Enterobacter agglomerans	3			X	X	X	X
Escherichia coli	2	X	X	X	X		X
Klebsiella oxytoca	2			X	X		
Shigella (cualquier especie)	2	X	X	X		X	X
Enterobacter cloacae	1			X			
Salmonella enteritidis	1		X				

FIGURA 14. DISTRIBUCION DE LOS MICROORGANISMOS ENCONTRADOS

C A P I T U L O      I V

D I S C U S I O N

El sistema utilizado en este estudio para identificar las enterobacterias aportó considerables ventajas. El método (del Enterotubo II) es sobre todo rápido, detalle primordial en la investigación; la rapidez se debe a la sencillez de los procedimientos y a la codificación de los datos que se utilizan para la identificación.

Además, el sistema es económico, pues no hay que preparar medios de cultivo, ni esterilizarlos; en el tubo vienen las cantidades necesarias y se tiene la gran ventaja de hacer todas las pruebas de una sola vez.

Existen otros métodos para identificar a las enterobacterias, pero la mayoría no son prácticos, por ser muy complicados, además de que algunos no son seguros.

Freeman et al. (8), evaluaron el sistema automicrobico, que consiste en 23 pruebas similares a las del Enterotubo. El sistema sí es eficaz, pero complicado, pues por no ser de origen comercial, el método no está sistematizado, y se tiene -- que llevar a cabo una por una de las pruebas.

El sistema de actividad enzimática parece ser verás, pero también complicado. Fué probado por Godsey et al. (10).

La técnica del número más probable es utilizada sólo para el agua, además Waarvick et al. (20) demostraron que no funciona.

Kumar et al. (14) describen el método de los tres tubos, que es parecido al método del Enterotubo, pero se tienen que llevar a cabo más pruebas y en tres tubos diferentes.

Hicock y Marshall (11), describen un eficaz método, pero aplicable sólo en sangre.

Ewing (7), probó ya la identificación de enterobacterias con el Enterotubo y obtuvo un alto índice de seguridad.

Todo esto último hace que el método utilizado sea el más conveniente en este caso, pues cualquiera de los otros métodos hubiera alterado o retardado los resultados.

En cuanto a la selección de pacientes, que fué estrictamente al azar, se observó en este ensayo, que para un estudio más específico, como por ejemplo, uno epidemiológico, podrían escogerse pacientes de ciertas características que elevan el índice de probabilidad de presentación de enterobacterias, o sea, pacientes que hayan sido sometidos a alguna reciente cirugía - de boca, o bien, que presenten algún padecimiento relacionable, o que mantengan siempre hábitos de mala higiene en general. -- Siendo así, es casi seguro que se encontrará un grado mucho - mayor de especies de enterobacterias en la boca. Además se podrían seleccionar para el estudio igual número de pacientes mujeres y hombres, con lo cual se podría sacar una conclusión en cuanto al sexo.

En un momento dado, las enterobacterias en boca, pueden - desencadenar un estado patológico, inclusive ahí mismo, lo -- prueba el hecho de haber sido aisladas de infecciones orofaciales y el hecho de encontrarse (en este estudio) en alto índice en surco gingival, pues esta puede ser la vía de entrada a lugares susceptibles y atacar en forma aguda o crónica los elementos de sostén de los dientes, además de otras estructuras adyacentes.

La presencia de enterobacterias en la boca no sólo nos pue

de indicar el riesgo de producirse un estado patológico en boca u otras partes del cuerpo, producido por estas mismas bacterias, sino que también puede ser la señal de que exista un estado patológico en otro tejido mucoso, producido por otras -- enterobacterias diferentes a las encontradas en boca; todo esto lo demuestra el estudio de Candy et al. (2) que fué ya mencionado en el capítulo II.

Hablando de infecciones nosocomiales; si en hospitales, - donde se supone que existe una estricta asepsia, se presentan con frecuencia marcada colonizaciones enterobacteriales, es lógico que en las clínicas odontológicas, públicas o privadas, y en los consultorios particulares, donde no se lleva a cabo un control tan rígido, y en ocasiones ningún control, exista un mayor riesgo de contaminación de los pacientes, sobre todo cuando se llevan a cabo cirugías.

Es de tomarse en cuenta, que a pesar del serio interrogatorio que se hizo a los pacientes, no se tiene el cien por -- ciento de seguridad en cuanto a los hábitos que ellos refieren, o los padecimientos que no se observaban clínicamente y que los pacientes describían. Aún así, si se pudo establecer la existencia o no de una relación entre la presencia de enterobacterias y todos estos factores:

-La purificación del agua, si bien no es determinante para evitar la presentación de algunas especies de enterobacterias en la boca, puede ser un factor coadyuvante.

-El establecimiento de enterobacterias puede ser más frecuente en el adulto joven, entre los 20 y 40 años, aunque parece ser que existe una tendencia a aumentar conforme avanza



la edad. Existe también una variación de las especies de enterobacterias en boca según la edad.

-Los padecimientos relacionables, podrían llegar a ser causados por la presencia de enterobacterias en cavidad bucal, - o bien, ser la causa de dicha presencia.

-Infelizmente, según sugiere este estudio, la higiene bucal por medio del cepillado, no interfiere con el establecimiento de enterobacterias en la boca.

-Esta investigación muestra, al parecer, que no existe relación con el fumar, cosa que no sucede en la investigación, - antes mencionada, hecha por Waldemar (21), en donde la colonización se presenta comunmente en fumadores, aunque si bien es cierto se refiere únicamente a vías respiratorias altas y nunca mencionan cavidad bucal.

-Por último, debido a todas las circunstancias observadas en esta tesis, es útil recomendar todos los medios de prevención que existen para evitar o disminuir la incidencia de enterobacterias en la boca, tales como: purificación del agua - potable (por ebullición o colocación de filtros), desinfección de tinacos, control sanitario de todos los alimentos y del ambiente en general, todo esto puede llevarse a cabo por medio de una instrucción a la población. No se debe escatimar en medidas de asepsia en las clínicas odontológicas y consultorios privados, usando la desinfección del ambiente y de todo lo que esté en contacto con el paciente. A las personas que se sepa son portadoras, se les deberá aislar, de manera que no estén manejando alimentos y no tengan contacto con otras personas, refiriéndose muy especialmente al odontólogo, que podría pro-

vocar un contagio a una gran cantidad de individuos.

En un futuro quizás se cuente con otros medios más eficaces de prevención, tales como: las vacunas y los inhibidores de adherencia de enterobacterias a las células mucosas, que están apenas en etapa de investigación, y que por cierto, sería útil un estudio más a fondo sobre esto en nuestro país, - además de estudios epidemiológicos en cuanto a enterobacterias en cavidad bucal.

C A P I T U L O      V

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

La gama de resultados obtenidos del modelo experimental y todos los factores analizados en esta tesis, llevan a concluir lo siguiente:

-Las enterobacterias si pueden hallarse en cavidad bucal, ya sea relacionadas o no a un estado patológico.

-Se puede sospechar que la presencia de dichas bacterias sean el primer paso en algunos casos de colonización y patosis.

-El establecimiento de dichas bacterias puede estar dado por una infección nosocomial, sobre todo en pacientes sometidos a intervenciones quirúrgicas en boca.

- El hábito de no purificar el agua ni tener control higiénico de los alimentos, pueden ser factores predisponentes para el establecimiento de enterobacterias en la boca.

-La prevención de todos los factores nocivos antes mencionados es el arma principal con la que se cuenta hasta ahora contra la instalación de las enterobacterias en la boca.

-La boca es un ideal modelo de estudio, en relación a contaminación, su estado de salud y el de otras partes del cuerpo.

-Es necesario un estudio más a fondo sobre la relación entre la enterobacterias y la boca de nuestra población; además de la investigación de nuevos métodos más eficaces de prevención.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Calderón, E. y De la Cruz, R. 1982. Mecanismos de adherencia bacteriana. Infectología, II, 411-21.
- 2.- Candy, D. et al. 1978. Adhesion of Enterobacteriaceae to buccal epithelial cells. The Lancet, Nov., 1157-8.
- 3.- Carter, P. et al. Dental Microbiology, first edition, Philadelphia, Harper and Row publishers. 1982. 461-78.
- 4.- Computer coding and identification system for Enterotube II. 1980. New Jersey: ROCHE DIAGNOSTICS.
- 5.- Davis, B. et al. Microbiology, second edition, Medical Department, 1973. 754-79.
- 6.- Elichiguerra J.M. 1977. Estudio bacteriológico del agua.... Tesis inédita para licenciatura. UNAM.
- 7.- Ewing, WH. 1973. Differentiation of Enterobacteriaceae by biochemical reactions. Education and Welfare.
- 8.- Freeman, J.W. et al. 1981. Laboratory evaluation of the - Automicrobic system for identification of Enterobacteriaceae. Journal of clinical Microbiology, 13, 895-8.
- 9.- Gibbons, R.J. and van Houte, J. 1970. Selective bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its role as an ecological determinant. Infectology and immunity, 6, 567-73.
- 10.- Godsey, J.H. et al. 1981. Rapid identification of Enterobacteriaceae associated with bacteremia with microbial enzymes activity profiles. Journal of clinical Microbiology, 13, 483-97.
- 11.- Hicock, P.I. and Marshall, K.E. 1980. Rapid identification of Enterobacteriaceae associated with bacteremia: a preliminary report. American Journal of Medical Microbiology, - 46, 776-8.

- 12.- Jawetz, E. et al. Microbiología Médica, 7<sup>a</sup> edición. México, El Manual Moderno, 1977. 236-48.
- 13.- Kihlstrom, E. et al. 1978. The adhesion of Enterobacteria an the effect of antibodies of different immunoglobulin - classes. Infectology and Immunity.
- 14.- Kumar, G.A. et al. 1979. Three tube method for de identification of Enterobacteriaceae. Indian Journal of pathologic bacteriology. 854-8.
- 15.- Ofek, I. et al. 1977. Adherence of Escherichia coli to hu man mucosal cells mediated by mannose receptors. Nature - 265, 623-5.
- 16.- Revah, S. y Serviansky, D. 1975. Evaluación técnica-econó mica en la pasteurización de la leche.... UNAM.
- 17.- Rosenblueth, A. El Método Científico. 1<sup>a</sup> edición. La Pren sa Médica Mexicana. México D.F. 1974, 94 pp.
- 18.- Sugarman B. and Donta, S.T. 1978. Adherence of Enterobacte riaceae to human buccal cells. Journal of Medical Micro--biology, 12, 373-9.
- 19.- Topazian, R. and Goldberg, M., Management of infections of the oral and maxilofacial regions. First edition. Saunders 1981.
- 20.- Waarvick, C.E. et al. 1981. Failure of the Most-Probable- Number thecnique to detect coliforms in drinking water -- and Raw water supplies. Applied and environmental microbio logy, 41, 130-8.
- 21.- Waldemar G. et al. 1980. Bacterial adherence to epithelial cells in bacillary colonization of the respiratory tract. - American Review of respiratory disease, 121, 55-63.