



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE
STREPTOCOCCUS MUTANS Y LACTOBACILLUS
PARA ESTABLECER LA PREVALENCIA DE
CARIES EN NIÑOS**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

EUGENIA BARRERA FLORES


**DIRECTOR DE TESINA
Q.F.B. FERNANDO FRANCO MARTÍNEZ**

MÉXICO, D. F.

2004



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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: _____

FECHA: _____

FIRMA: _____

A DIOS

*DOY GRACIAS A DIOS POR PERMITIRME
LLEGAR A ESTA META EN MI VIDA Y POR NO
ABANDONARME NUNCA.*

**A MIS PADRES
DAVID Y LUZ MARÍA**

*PORQUE GRACIAS A SU CARIÑO GUÍA Y
APOYO EN MI VIDA TANTO PERSONAL COMO
ACADÉMICA, HE LLEGADO A RELIZAR UNO DE LOS
ANHELOS MÁS GRANDES DE MI VIDA,
FRUTO DEL INMENSO AMOR, APOYO Y CONFIANZA
QUE EN MI SE DEPOSITO.*

**A MIS HERMANOS
MIRELLA, LUZ MA. Y
DAVID**

*QUIENES AL IGUAL QUE MIS PADRES ME
BRINDAN SU AMOR, CARIÑO Y APOYO, DÍA
CON DÍA, ADEMÁS DE MOTIVARME A SER MEJOR.*

IGNACIO

*POR SU AMOR, TIEMPO Y APOYO,
POR ESTAR SIEMPRE A MI LADO.*

AMIGOS Y FAMILIARES

*QUE SIEMPRE ME HAN APOYADO CUANDO
MÁS LO HE NECESITADO.*

ÍNDICE

	<i>PÁGINAS</i>
INTRODUCCIÓN	5
ANTECEDENTES	7
1. CARIES DENTAL	
1.1. Concepto.	11
1.2. Etiología.	12
1.3. Factores De Riesgo.	13
1.4. Patogenia.	17
1.5. Características Clínicas	18
2. SALIVA.	21
2.1. Composición de la Saliva.	23
2.2. Funciones de la Saliva.	26
2.2.1. Protectora.	26
2.2.2. Digestiva.	27
2.2.3. Relacionada con la Actividad de la caries.	28

3. MICROORGANISMOS ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LA CRIES.

30

3.1. *Streptococcus* del grupo *mutans*.

31

3.1.1. Clasificación.

33

3.1.2. Factores de cariogenicidad de *Streptococcus* de grupo *mutans*.

34

3.2. *Lactobacillus* spp.

35

3.2.1. Clasificación.

39

3.2.2. Factores de cariogenicidad de *Lactobacillus* spp.

41

3.3. Metabolismo de la sacarosa

42

3.3.1. Síntesis de polisacáridos extracelulares.

51

3.3.2. Síntesis de polisacáridos intracelulares.

55

4. PRUEBAS DE ACTIVIDAD DE CRIES, IMPORTANCIA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA PREVALENCIA DE CRIES.

60

4.1. Pruebas Microbiológicas.

62

4.2. Cuantificación de *Streptococcus* del grupo *mutans* en saliva.

63

4.3. Cuantificación de *Lactobacillus* en Saliva.

70

4.4. Pruebas de SNYDER y pruebas de ALBAN.

73

4.5. Prueba de la Capacidad Amortiguadora.

76

CONCLUSIONES

79

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

80



INTRODUCCIÓN

La caries dental es una de las enfermedades infecciosas más comunes en la mayoría de los humanos, es considerada multifactorial debido a que existe una interrelación de factores primarios, como lo son: el diente, los microorganismos y el sustrato. Además el tiempo que se requiere debe ser el suficiente para que sean vencidos los mecanismos de defensa presentes en la cavidad bucal del individuo.

Por ser considerada la caries una enfermedad infecciosa, el Cirujano Dentista requiere el uso de diferentes pruebas de laboratorio para poder prescribir la terapéutica necesaria y controlar la enfermedad, proporcionando así al paciente una explicación visible de lo que está sucediendo en su boca.

Los microorganismos más importantes que intervienen son: los *Streptococcus* del grupo *mutans*, interviniendo posteriormente otros del grupo *sanguis* y del grupo *salivarius* además de los *Lactobacillus*.

En numerosos estudios, el *Streptococcus mutans* ha sido identificado como una bacteria cariogénica en la cavidad oral debido a ciertas propiedades biológicas como la producción de ácido láctico y polisacáridos extracelulares.

Actualmente se aceptan unas 45 especies del género *Lactobacillus*, diez de las cuales pueden ser aisladas en la cavidad bucal. Estos microorganismos tienen las propiedades de ser acidogénicos y acidúricos.

El control de la caries no debe limitarse a la eliminación del tejido dañado y a la restauración del mismo. Ya que actualmente el conocimiento de los factores etiológicos hace posible diagnosticar y tratar la enfermedad antes de que dé lugar a lesiones irreversibles. Esto implica el diagnóstico de riesgo microbiológico y el control de la enfermedad en sus estadios iniciales.

Los métodos nos permitirán determinar la presencia de microorganismos cariogénicos en la boca de nuestros pacientes tomando muestras de placa dental o saliva, éstas se realizan para decidir y vigilar el tratamiento correcto y eficaz del paciente. Y sobre todo la prevención de la de caries dental en niños.



ANTECEDENTES

La creencia de que un gusano dental causaba la caries fue mantenida con obstinación hasta el siglo XVIII. El primer documento al respecto proviene de Babilonia, en donde una de tablillas de la biblioteca real expone el mito en forma poética.

Galeno (¿131?-201 dC), médico que practicó la odontología en Roma, creía que cuando ocurría un desarreglo en la cabeza se producían ícores (sangre de los dioses en los poemas homéricos) catarrales que, al pasar a órganos como la boca, les provocaba lesiones.

A principios del siglo XIX, ya resultó demasiado evidente la preponderancia de los factores locales en la iniciación de la caries.¹

Gracias a dos hechos fundamentales como el aporte científico del microscopio de Van Leeuwenhoek en el siglo XVII., el cual permitió el nacimiento y posterior desarrollo de la bacteriología y la postulación de la teoría químico-parasitaria, la cual descubre el origen infeccioso de la caries dental.²

En 1890, W.D. Miller, discípulo del famoso investigador alemán Koch, formuló una teoría en la que introducía el concepto de la presencia de microorganismos como factor esencial en la producción de las caries. La teoría de Miller, que ha trascendido hasta nuestros días, expresa que la caries se desarrolla como resultado de un proceso que ocurre en dos fases: 1) descalcificación y reblandecimiento del tejido por acción de

bacterias acidógenas, y 2) disolución del tejido reblandecido por la acción de microorganismos proteolíticos.¹

La riqueza bacteriológica de la boca y la carencia de técnicas apropiadas para la toma de muestras y determinación específica de las bacterias presentes en el medio bucal no permitió determinar con precisión las bacterias responsables de la caries lográndose solamente establecer que el microorganismo predominante tanto en el medio salival como en la propia lesión, era el ***Lactobacillus acidófilus***.²

En 1916 Kliger señala que el agente etiológico de la caries debía ser un microorganismo acidógeno (productor de ácido) y al mismo tiempo acidúrico (resistente al ácido). Introduce un nuevo método en la bacteriología bucal, cuando logra obtener muestras bacterianas de distintas lesiones cariosas y cuantifica su resultado bacteriano en base al peso de la muestra, clasificando las bocas como: **limpias** o **sucias** y las caries como **primarias** y **dentinarias**, de acuerdo a la apariencia clínica y el conteo bacteriano.

En 1924, el científico inglés, J. Filian Clarke logra identificar entre los microorganismos presentes en las lesiones cariosas insidiosas, una bacteria de forma esférica que describió como "opaca, marronzuca, de forma redondeada, con un centro luminoso y apariencia pilosa". Esta bacteria no había sido descrita antes en la literatura científica, y la llamó, por su novedoso y extraño aspecto, ***Streptococcus "mutans"*** (mutante).

Los estudios epidemiológicos han demostrado una relación directa entre el número de *S. mutans* y la presencia de la caries dental. En la actualidad esta relación se usa para predecir caries dental a partir de *S. mutans* recuperados de la saliva. Los recuentos bacterianos altos como 1X10⁶ UFC por mililitro de saliva, indican un alto riesgo de caries dental.²

Es notable el tiempo y el esfuerzo que se ha gastado en desarrollar pruebas para la identificación individual del riesgo para desarrollar caries dental. Una vez identificados los individuos susceptibles pueden ser aplicados Programas intensivos para prevenir el desarrollo de caries.

Incluso aunque la caries dental es conocida como una enfermedad multifactorial, el enorme número de pruebas para la susceptibilidad de caries, están basadas en el aspecto microbiológico.

Hadley desarrolló un método para el crecimiento selectivo de *Lactobacillus* que dio colonias de estos microorganismos para ser calculados y evaluar la actividad de la caries. Snyder desarrolló una simple prueba colorimétrica para evaluar el número de reactivos de *Lactobacillus* en saliva. Una prueba colorimétrica similar, de la producción de ácido a partir de sacarosa fue desarrollada por Rickles. Alban desarrolló una prueba colorimétrica microbiológica similar a la prueba de Snyder. Nevitt y Hardwick reportaron el uso de métodos acuosos de metil rojo como un posible indicador para la identificación del diente con caries susceptible.

Recientes pruebas microbiológicas evalúan a los *S. mutans* en los niveles de placa o saliva. Algunos autores han mostrado que estos microorganismos pueden jugar un papel importante en la iniciación del proceso de la caries. Por otro lado el *Lactobacillus* fue considerado como un importante invasor secundario, que contribuye a la progresión de la caries dental.

Westergren y Krasse desarrollaron un método para la cuantificación y cálculo de *S. mutans* con la estimulación de la saliva. En este método la saliva es diluida sucesivamente e inoculada sobre un medio de crecimiento para *S. mutans*. Una simple prueba de inmersión basada en un medio selectivo fue legada por Jordan y otros autores para detectar e

identificar *S. mutans* en saliva estimulada. Como recolectar la saliva estimulada en un niño puede ser difícil, Kohlery Bratthall desarrollo un práctico método para evaluar los niveles de *S. mutans* en niños, utilizando una cuña de madera para recolectar las muestras de saliva. En este método la cuña de madera contaminada de saliva, fue enseguida presionada contra el medio selectivo para inocularlo. En otra técnica semicuantitativa desarrollada por Matsukubo y otros autores, usaron la habilidad de adhesión de *S. mutans* a las superficies dentales, y en un recipiente de vidrio con sacarosa en un medio selectivo (mitis-salivarius) determinaban los niveles de estos microorganismos en saliva.

Numerosos autores han reportado asociaciones positivas entre los niveles de *S. mutans* en la placa dental y / o saliva con la prevalencia de caries dental. Esta relación ha sido encontrada en adolescentes y niños de preescolar. ⁴

Estos logros científicos aportan los conocimientos de los cuales dispone la ciencia odontológica para fundamentar su aspecto más útil, el aspecto preventivo. ²

Muchos de los criterios diagnósticos de la actividad cariosa en la actualidad se basan en sucesos históricos. Las pruebas microbiológicas realizadas en el consultorio dental, mejoran la calidad y posibilidad de una valoración de riesgo, y un diagnostico temprano. ⁵



1. CARIES DENTAL

1.1. CONCEPTO.

Caries dental: (caries del latín, **putrefacción, destrucción**) significa la destrucción o ruptura de los dientes.¹

Según la OMS, la caries dental se puede definir como un proceso patológico, localizado, de origen externo, que inicia tras la erupción y que determina un reblandecimiento del tejido duro del diente, evolucionando hacia la formación de una cavidad.

La caries se caracteriza por una serie de complejas reacciones químicas y microbiológicas que acaban destruyendo al diente. Se acepta que esta destrucción es el resultado de la acción de ácidos producidos por bacterias en el medio ambiente del diente. Clínicamente, la caries se caracteriza por cambio de color, pérdida de translucidez y la descalcificación de los tejidos afectados.⁶

Otros conceptos de caries: "Es una enfermedad de los tejidos calcificados del diente provocada por ácidos que resultan de la acción de microorganismos sobre los hidratos de carbono".¹ "Una infección local transmisible y modificada por carbohidratos, con la saliva como regulador determinante".⁵ "La caries dental es una enfermedad infecciosa en cuyo comienzo y progresión intervienen microorganismos específicos".³ "Es una enfermedad infecciosa, crónica, transmisible, muy prevalente en el ser humano, que se caracteriza por la destrucción de los tejidos duros dentales, por la acción de los ácidos producidos por los depósitos microbianos adheridos al diente".⁷

1.2. ETIOLOGÍA.

En la actualidad se conoce bien la etiología multifactorial de la caries dental, y por lo tanto la enfermedad no sólo es tratable, sino que en muchos casos se puede evitar una infección. La evaluación de los factores etiológicos puede realizarse antes de que ocurran los signos clínicos, así como en los casos en que ya existen lesiones o restauraciones.⁵

La etiopatogenia de la caries dental fue propuesta por W. Miller en 1882; según Miller el factor más importante en la patogenia de la enfermedad era la capacidad de gran número de bacterias bucales de producir ácidos a partir de los hidratos de carbono de la dieta. Los resultados experimentales obtenidos por Miller indicaron que un simple grupo o especie microbiana podía ser responsable de la caries dental. Pero Paul Keyes en 1960 fue quien en forma teórica y experimental estableció que la etiopatogenia de la caries obedece a la interacción simultánea de tres elementos o factores principales: un factor **“microorganismo”** que en presencia de un factor **“sustrato”** logra afectar a un factor **“diente”** (también denominado hospedero). La representación esquemática de estos tres factores básicos se conoce como triada de Keyes.³

Un esquema clásico, vigente en la actualidad, para explicar cómo se instaura la enfermedad es esta triada etiológica de Keyes, modificada por Newbrum. Según ésta para que se desarrolle son necesarios los tres factores ya mencionados mantenidos en el **“tiempo”**.⁷

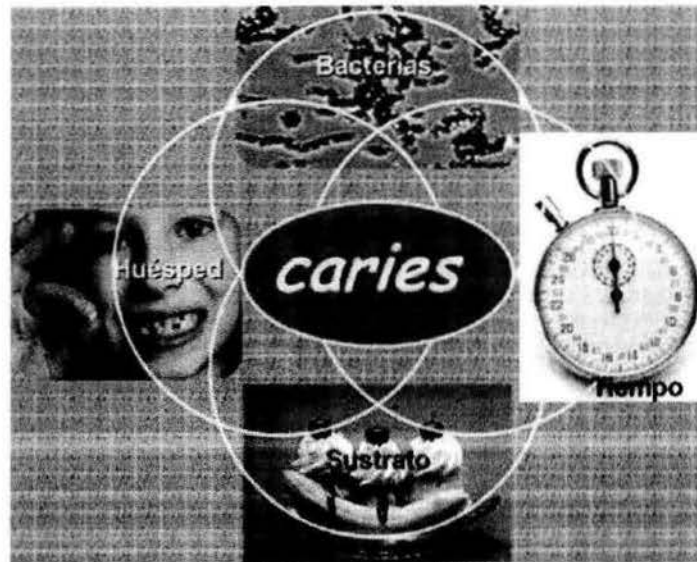


DIAGRAMA DE KEYES MODIFICADO

1.3. FACTORES DE RIESGO.

La caries dental es una patología de etiología multifactorial, en tal manifestación intervienen tres factores principales involucrados en el proceso: la cantidad de la ingesta de los azúcares, en particular de la sacarosa; las características del organismo del huésped, dentro de estos están los factores de defensa presente en la saliva, y la estructura (grado de mineralización de los tejidos duros del diente); la acción de las especies bacterianas presentes en la placa son determinantes.⁸ Describiendo a continuación cada uno de ellos.

A) **BACTERIAS:** para comprender la acción de los microorganismos en la producción de la caries, deben revisarse los siguientes conceptos.

***Placa Dental Bacteriana.-** es una masa blanda, tenaz y adherente de colonias bacterianas que se desarrolla sobre la superficie de los dientes, las encías y de otras superficies bucales cuando no se practica métodos de higiene bucal adecuados. Consta de dos elementos básicos:

***Matriz Intracelular.-** Compuesta fundamentalmente por proteínas que parecen tener poca importancia en la patogénesis de la caries, y polisacáridos (glucanos, fructanos y heteroglucanos). Éstos son sintetizados por las bacterias y favorecen la cariogénesis por constituir reservas energéticas, contener sustancias favorecedoras de la inflamación y facilitar la adherencia bacteriana.

***Microorganismos.-** las cepas bacterianas cariogénicas deben ser capaces de fermentar hidratos de carbono, produciendo ácidos como subproductos metabólicos, así como de crecer y reproducirse en dicho medio ácido. Las cepas más importantes que intervienen en el inicio de la cariogénesis son los *Streptococcus* del grupo *Mutans* interviniendo posteriormente otros estreptococos (*S. sanguis*, *S. salivarius*) y *Lactobacillus*.⁶

B) **SUSTRATO:** Los factores dietéticos son importantes, ya que los microorganismos bucales, utilizan los hidratos de carbono de la dieta, especialmente la sacarosa, para obtener energía y sintetizan polisacáridos complejos.¹

Por tal motivo la presencia de azúcares en la dieta parece ser el factor ambiental más importante de la caries, habiendo múltiples estudios en animales así como epidemiológicos que indican que sin hidratos de carbono fermentables en la dieta, la caries dental no se desarrolla.

Los glucanos pueden ser a su vez, de dos tipos en función del enlace de glucosa (1-3 ó 1-6) dextranos y mutanos. Los dextranos son insolubles en agua, muy pegajosos y sirven componentes de la matriz de la placa, literalmente “pegando” bacterias al diente.

Los hidratos de carbono dan lugar, a través de las acciones enzimáticas bacterianas, a metabolitos ácidos (láctico, butírico y acético) que actuarán sobre la Hidroxiapatita, provocando la descalcificación dental.

Parece ser más importante la frecuencia de la ingesta de sacarosa que la cantidad total ingerida, siendo además más cariogénas las formas pegajosas o adhesivas que sólidas y éstas más que las líquidas.

C) SUSCEPTIBILIDAD DEL HÚESPED: Los factores que determinan una distinta susceptibilidad ante la cariogénesis son básicamente:

- Composición del esmalte dental.
- Presencia de hendiduras y fisuras en su superficie.
- Saliva.
- Morfología del diente. Las irregularidades en la forma del arco dental y la sobreposición dental (maloclusión dental) favorecen el desarrollo de la caries.

Todos los niños pueden padecer caries dental, pero existen grupos de riesgo que tienen mayor probabilidad de desarrollarla.

Factores Nutricionales

➤ Afectación Nutricional Prenatal.

- Infecciones graves o déficit nutricional importante en el tercer trimestre gestacional.
- Ingesta de tetraciclinas por la madre.
- Prematuridad.

➤ Afectación nutricional postnatal.

- Insuficiente ingestión de calcio, fosfatos y flúor.

- Hábitos alimenticios inadecuados
- *Chupetes o tetinas endulzados.
- *Biberón endulzado para dormir.
- *Consumo de bebidas con azúcares ocultos (bebidas carbónicas, zumos...)
- *Consumo de jarabes endulzados.

Factores Relacionados con la Higiene Dental

➤ Alteraciones morfológicas de la cavidad oral.

- Malformaciones orofaciales.
- Uso de ortodoncias.

➤ Deficiente higiene oral.

- Mala higiene oral de los padres y hermanos.
- Incorrecta eliminación de la placa dental.
- Minusvalías psíquicas importantes (dificultad de colaboración).

Factores Asociados Con Xerostomía.

- Hipertrofia adenoidea.
- Síndrome de Sjögren.
- Displasia ectodémica.

Enfermedades En La Manipulación Dental Supone Un Riesgo

- Cardiopatías.
- Inmunosupresión.
- Hemofilia.

1.4. PATOGENÍA

A partir de la presencia en la cavidad bucal de un carbohidrato como la sacarosa, que posee la propiedad de descender el pH en menor tiempo, las cepas de *S. mutans* sintetizan mutanos por medio de las enzimas extracelulares dextranasa y glucosiltransferasa; esta vía metabólica facilita la adhesividad de las bacterias entre sí, a la película adquirida y al esmalte y así comienza a formarse la placa dental bacteriana.

Por el metabolismo intracelular de la glucosa, por vía glucolítica se produce ácido láctico.

Si hay baja disponibilidad de sacarosa en la interfase placa-esmalte el pH tiende a ser alcalino y favorece el proceso de remineralización; en cambio ante exceso de sacarosa el pH se torna ácido y se acelera el proceso de desmineralización del esmalte.

De acuerdo al tiempo transcurrido las bacterias del medio bucal se incorporan a la biopelícula de placa dental, se agregan entre sí se multiplican y se organizan hasta conformar una placa cariogénica madura.

3

Entonces, la disolución de la materia inorgánica de la estructura dental es producida por los ácidos inorgánicos, que son subproductos del metabolismo bacteriano de los hidratos de carbono de la dieta. Cuando la concentración de iones H^+ sobre la superficie del diente aumenta como resultado de la fermentación de los azúcares o por parte de las enzimas bacterianas de la placa dental, la Hidroxiapatita del esmalte comienza a disolverse, al igual que hará la dentina en estados posteriores del proceso de la caries.

La materia inorgánica es destruida luego por medios mecánicos o enzimáticos una vez que ha comenzado la desmineralización, a medida que aumenta la ingestión de azúcares; aumenta la formación de ácidos produciéndose la desmineralización del diente. Cuando la tasa de formación del ácido y la velocidad de desmineralización es mayor que las fuerzas taponantes que determinan la remineralización, el esmalte del diente se desgasta lentamente y finaliza originando la cavidad en el diente.

Las características anatómicas de la superficie de los dientes, así como su alineación, son poderosos determinantes del riesgo de caries. La aparición de caries es mayor en fosas, puntos y fisuras que en las superficies blandas, porque la retención de la comida también es más elevada. En las superficies blandas, la retención física de microorganismos y comida es menos probable, la neutralización de los productos bacterianos es más común, y el aclaramiento de los residuos de comida por el jugo Salival es más eficaz.⁹

1.5. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

Si la placa no es eliminada, ante la presencia de un hospedero susceptible microorganismos cariogénicos y un sustrato hidrocarbonado, los hidrogeniones llegan a la capa subsuperficial del esmalte, dan origen a poros más grandes y comienza a disolver la sustancia interprismática; la lesión se traduce clínicamente como mancha blanca. En este momento el proceso de desmineralización supera al de mineralización y si la lesión no se trata se torna irreversible.³

Como ya se ha establecido, la caries causa la destrucción localizada de los tejidos dentales duros debido a los ácidos producidos por

las bacterias que existen adheridas a los dientes. Tal efecto puede afectar al esmalte, la dentina e incluso la pulpa. Clínicamente se caracteriza por un cambio de color, pérdida de translucidez y descalcificación de los tejidos afectados. A medida que avanza el proceso, se destruyen los tejidos y forman cavidades.

En la clínica el esmalte sano aparece duro y brillante; consiste en cristales de Hidroxiapatita dispuestos de manera ordenada formando prismas y espacios interprasmáticos. Si se produce la disolución del mineral, los cristales disminuyen y esto origina un agrandamiento de los espacios interprasmáticos. Al incrementarse la porosidad del esmalte gradualmente, se hace menos translúcido, siendo uno de los primeros síntomas visibles de la caries, la opacidad blanquecina en el esmalte, clásicamente llamada lesión de “mancha blanca”.

La evolución de estas lesiones puede ser una lesión del esmalte hacia la desmineralización, o puede producirse una remineralización, ésta puede originarse parcialmente antes de comenzar la cavitación del esmalte. Una vez que la lesión está establecida, no se puede dar un proceso de remineralización ni por tanto tomarse medidas preventivas.⁹

La caries dental puede clasificarse con respecto al sitio de lesión. La caries de *fosas y fisuras* aparece en molares, premolares y superficies palatinas de incisivos superiores; la caries de *superficie lisa*, en proximales y más rara vez en vestibulares y linguales; la *caries radicular* en cemento o dentina, o ambos cuando se asocia a la restauración preexistente.

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

Superficies lisas.- puede observarse como una “una mancha blanca”, que refleja una desmineralización superficial del esmalte.

Surcos y fisuras.- está influida por su particular anatomía e histología del diente.

Cuando **las superficies radiculares** están expuestas al ambiente oral como resultado de una retracción gingival, es posible el desarrollo de caries particularmente en superficies proximales y en la unión esmalte-cemento. En la superficie radicular, la mancha blanca no aparece debido a la ausencia del esmalte.



2. SALIVA

La saliva juega un papel importantísimo en la higiene de la boca. Además de intervenir en el proceso digestivo, ayudando a la masticación y recubriendo los alimentos de enzimas que facilitan la transformación del almidón contenido en ellos, este líquido incoloro impide la proliferación de la placa bacteriana.

La saliva es una secreción exocrina compleja, mucoserosa, clara y ligeramente ácida, producida por las glándulas salivales mayores (93% de la secreción) y menores (7% de la secreción) y también por el fluido gingival.

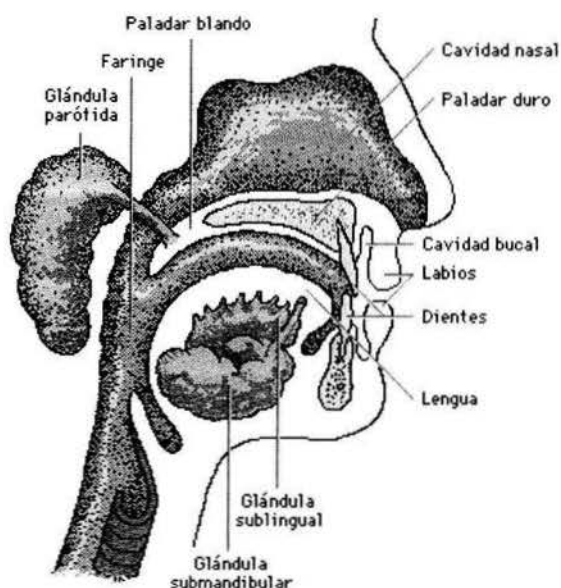
Está compuesta por una variedad de electrolitos que incluyen: sodio, potasio, calcio, magnesio, bicarbonato y fosfato. También se consiguen en la saliva inmunoglobulinas, proteínas, enzimas, mucina y productos como urea y amonio. El conocer los componentes salivales, la fluidez y la función, es extremadamente importante a la hora de tratar a un paciente.

Este fluido es utilizado como herramienta en el diagnóstico de caries, enfermedades periodontales, enfermedades y disfunción de las glándulas salivales y las infecciones por el hongo *Candida albicans*.

La saliva es un fluido oral valuable y al cual se debe dar la importancia que realmente tiene.¹⁰

La saliva es un líquido secretado de forma continua en la boca. Normalmente, se secreta la cantidad suficiente de saliva para mantener húmedas las membranas mucosas de la boca y la faringe. Sin embargo,

cuando el alimento entra en la boca, la secreción de saliva aumenta. Lubrica, disuelve e inicia la degradación química de los alimentos.



ANATOMÍA DE LA BOCA

Las glándulas submaxilares son las más grandes, están localizadas debajo de la mandíbula inferior y desembocan en el interior de la cavidad bucal; las glándulas sublinguales se encuentran debajo de la lengua, y las parótidas están colocadas frente a cada oído.

Las glándulas bucales también segregan saliva y están en las mejillas, cerca de la parte frontal de la boca. La saliva de la glándula parótida contiene una enzima llamada amilasa.¹¹

2.1. COMPOSICIÓN DE LA SALIVA.

Aproximadamente el 99 por ciento de la saliva es agua. El uno por ciento restante consiste de moléculas orgánicas grandes (proteínas, glicoproteínas y lípidos), de moléculas orgánicas pequeñas (glucosa, urea) y de electrolitos (sodio, potasio, cloro y fosfatos).²

Cada glándula productora de saliva secreta diferentes proporciones de ingredientes a la saliva. Las glándulas parótidas están formadas por células que secretan un líquido seroso acuoso que contiene amilasa salival. Las glándulas submandibulares están constituidas por células similares a las existentes en las glándulas parótidas y por algunas células mucosas. Por consiguiente secretan un líquido espeso con moco pero que todavía contiene bastante enzima. Las glándulas sublinguales están formadas principalmente por células mucosas, por lo que secretan un líquido mucho más espeso que sólo aporta una pequeña parte de amilasa a la saliva.

Los iones de cloruro presentes en la saliva activan la amilasa salival. Los iones bicarbonato y fosfato neutralizan los alimentos ácidos que entran en la boca. Como resultado, la saliva es sólo ligeramente ácida (pH de 6,35 a 6,85).

La urea y el ácido úrico se encuentran en la saliva porque las glándulas productoras de saliva, contribuyen a la eliminación de las moléculas de desecho del organismo.¹¹

Estos productos interactúan en algunas funciones, dentro de las siguientes áreas:

1. Bicarbonato, fosfato y urea, actúan modulando la acidez (el pH) y la capacidad buffer (amortiguadora) de la saliva.
2. Las macromoléculas proteínicas y la mucina, sirven para limpiar, atacar a los microorganismos y contribuyen en el metabolismo de la placa dental.
3. El calcio, fosfato y las proteínas trabajan conjuntamente, modulando la desmineralización y remineralización.
4. Las inmunoglobulinas, proteínas y enzimas proveen una acción antibacterial.

Debido a sus componentes, la saliva cumple una función en el mantenimiento de la salud oral, y crea un balance ecológico adecuado.¹⁰

Dentro de las proteínas se describirán las de mayor importancia:

AMILASA: Las alfa amilasas son las enzimas más abundantes de la saliva. Su función más conocida consiste en la preparación del almidón para el proceso digestivo mediante la hidrolización de enlaces alfa 1-4 de glucosa y maltosa.

FIBRONECTINA: es una glucoproteína presente en las superficies celulares, membranas basales, matrices extracelulares y tejido conjuntivo, así como en líquidos corporales, entre ellos suero y saliva.

En la cavidad bucal la fibronectina se localiza a lo largo de la interfase diente- tejido conjuntivo gingival y en la interfase epitelio-cemento e inhibe la colonización epitelial por bacterias Gram-negativas.

HISTATINAS Y ESTATERINAS: Las histatinas, que constituyen una familia de péptidos básicos con gran contenido de histidina (aminoácido no

esencial para el hombre), forma parte de la película adquirida del esmalte e inhiben la precipitación de sales de calcio. Ayudan a mantener un pH relativamente neutro en la cavidad bucal.

La estaterina, un fosfato peptídico rico en tirosina (aminoácido presente en la dieta y liberado por hidrólisis de las proteínas de los alimentos), fija el calcio, tiene gran afinidad por la hidroxiapatita y obstaculiza la precipitación de las sales de fosfato de calcio, lo que le confiere una función desmineralizante.

MUCINAS: Las mucinas son glucoproteínas de alto peso molecular. Las propiedades viscoelásticas de estas mucinas ayudan a la formación del bolo alimenticio para la masticación y deglución eficaz.

PEROXIDASA SALIVAL: El sistema peroxidasa está compuesto por la enzima peroxidasa, el ión tiocianato y el peróxido de hidrógeno. Esta enzima cataliza la oxidación del ión tiocianato por el peróxido de hidrógeno, por lo que genera la intoxicación directa de gran cantidad de microorganismos, incluido *Streptococcus mutans*. La peroxidasa salival neutraliza los efectos nocivos del hidrógeno producido por diversos microorganismos bucales.

LISOZIMA (MURAMIDASA): Esta proteína lisa las paredes celulares de las bacterias Gram-positivas.

INMONUGLOBULINA A (IgA): la IgA es el anticuerpo predominante en todas las secreciones seromucosas del organismo (saliva, secreciones nasales, lágrimas, sudor, calostro, secreciones de los tractos gastrointestinal y genitourinario y secreciones pulmonares).

La función de la IgA es proteger las superficies del organismo del ataque de los microorganismos impidiendo su adherencia y su mecanismo de acción puede interpretarse como una forma de inmunidad local.^{2,3.}

2.2. FUNCIONES DE LA SALIVA.

La saliva tiene muchas funciones tales como proteger la integridad de la mucosa, eliminar restos alimenticios y bacterias de la cavidad bucal, neutralizar ácidos, acidificar bases y proveer de los iones necesarios par remineralización de los tejidos dentarios, además tiene propiedades antibacterianas, antifungicidas y antivirales. Adicionalmente, los componentes de la saliva facilitan la masticación, la deglución, la fonación así como las funciones sensoriales de la cavidad bucal.

Entre sus funciones cabe mencionar:

- * Lubricación y protección.
- * Capacidad buffer y limpieza.
- * Mantenimiento de la integridad dentaria.
- * Acción antibacterial.
- * Gusto y digestión.

Siendo resumidas sus funciones en; función protectora, digestiva y funciones relacionadas con la actividad de caries.^{2, 3, 12}

2.2.1. PROTECTORA.

La saliva lubrica los tejidos duros y blandos de la cavidad bucal a través de las glucoproteínas. Las mucinas salivales se depositan sobre las mucosas, previenen la desecación y evitan la penetración de toxinas y sustancias irritantes.

Al contener factores de la coagulación (VIII, IX, X y XII), acelera la coagulación sanguínea y evita que tras erosiones y heridas se produzca la penetración bacteriana en la submucosa. Un papel importante le corresponde a IgG.

FUNCIÓN PROTECTORA

- ❖ Lubricación
 - Agua
 - Mucina.
 - Glicoproteínas ricas en prolina.
- ❖ Integridad de la mucosa
 - Mucina.
 - Agua.
 - Electrólitos.

2.2.2. DIGESTIVA.

La saliva participa en la formación del bolo alimenticio y solubiliza los alimentos sólidos.

El agua presente en la saliva proporciona un medio para la disolución de los alimentos, de forma que puedan ser saboreados, y para el inicio de las reacciones digestivas^{2, 11}

- ❖ Preparación de alimentos
 - Agua
 - Mucina

❖ Digestión }
- Amilasa, Ribonucleasa.
- Lipasa, Proteasa.
- Mucina

❖ Gusto }
- Agua
- Gustina

❖ Lenguaje }
- Agua.
- Mucina

2.2.3. RELACIONADA CON LA ACTIVIDAD DE LA CARIES.

La saliva es el factor singular de mayor importancia en el medio bucal. Las macromoléculas salivales están comprometidas con las funciones de lubricación, digestión, formación de película salival o adquirida, adherencia y agregación bacteriana, formación de la placa dental y provisión de un medio protector para el diente.

Asimismo, es efectiva para mantener el pH de la cavidad bucal y contribuye a regular el pH de la placa dental. Mantiene la integridad dentaria por medio de su acción de despeje de carbohidrato, regula el medio iónico para proveer capacidad de remineralización.

Numerosos problemas bucales son causados por hipofunción de las glándulas salivales.

Las funciones relacionadas con la actividad de caries se resumen así:

a) CAPACIDAD BUFFER.- Esta capacidad, que se vincula con el contenido de bicarbonato-ácido carbónico, sirve para mantener el pH bucal relativamente constante y así evita la acción desmineralizante de los ácidos sobre el esmalte, ya que el pH cumple una función clave en el desarrollo de la microbiota bucal. El pH salival promedio es de 6,7. Un pH bajo, (entre 4 y 5) favorecerá el desarrollo de microorganismos acidogénicos y acidúricos tales como *Streptococcus* y *Lactobacillus*.

b) ELIMINACIÓN DE AZÚCARES.- Se produce por disolución del azúcar en la saliva de la cavidad bucal antes de su deglución. Su capacidad de eliminación está directamente relacionada con el flujo salival. El volumen de saliva segregado por un individuo varía entre 700 y 800 mL por minuto. La mayor parte de este volumen es producido antes, durante y después de las comidas, alcanza su pico máximo por la tarde y disminuye notablemente durante el descanso nocturno.

c) CAPACIDAD REMINERALIZANTE.- La saliva posee esta capacidad al estar sobresaturada de calcio y fosfato.

d) FORMACIÓN DE PELÍCULA SALIVAL ADQUIRIDA Y AGREGACIÓN SALIVAL.- La película salival adquirida cubre la superficie del esmalte casi inmediatamente después de higienizado y así inicia la formación de la placa dental. El factor de agregación salival es un polímero que permite la agregación de bacterias de especies similares en primer término y luego de bacterias de especies diferentes.

De este modo los microorganismos se van adsorbiendo sobre la superficie de la película mediante diferentes mecanismos de adhesión y así comienza a formarse la placa bacteriana.³



3.MICROOGANISMOS ASOCIADOS A LA DESARROLLO DE LA CARIES.

Entre estos, el que juega el papel más importante es el *S. mutans* en el desarrollo de la caries, tal microorganismo es considerado el único agente microbiológico causante de la enfermedad. Esto contrasta con la hipótesis de algunos autores que consideran que en el mecanismo patogénico de la caries muchas especies microbiológicas están involucradas, entre ellas los *Lactobacillus*, el *Actynomices* y otros estreptococos orales, de cuales es oportuno precisar que su intervención es solo en la progresión y no en la iniciación de la lesión cariosa.¹³

Los *Streptococcus mutans* y los *Lactobacillus* han sido relacionados en estudios numerosos siendo los de mayor importancia en la patogénesis de la caries dental (Keyes, 1960; Loesche y Straffon, 1979; Van Houte, 1980). Los estreptococos han sido fuertemente implicados en la iniciación de la lesión de la caries (Hamada y Slade, 1980), se ha pensado mientras que, los Lactobacilos están involucrados en su progresión (Edwarson, 1974).¹⁴

3.1. STREPTOCOCCUS DEL GRUPO MUTANS.

El *Streptococcus mutans* es considerado el principal agente etiológico de caries dental en humanos y animales experimentales.

En 1924, Clarke aisló organismos a partir de lesiones cariosas que el denominó *Streptococcus mutans* debido a que con la coloración de Gram, ellos se observaban de forma más ovalada que redondeada, que es la forma típica de los *Streptococcus*, por lo que él consideró que éstas bacterias eran mutantes de este género.

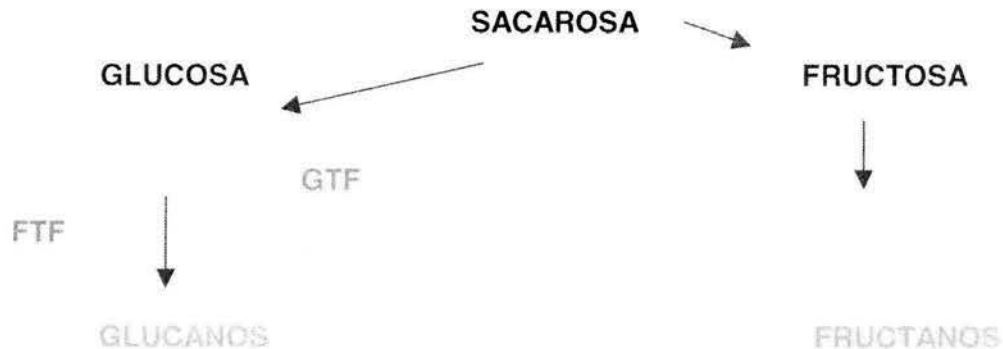


STREPTOCOCCUS MUTANS

Las células de *S. mutans* se caracterizan por ser cocos Gram-positivos, presentan un diámetro de 0.5 a 0.75 milimicras, y se disponen en forma de cadenas, característica propia de este género. En medios de cultivo conteniendo sacarosa, esta bacteria puede producir polisacáridos extracelulares, adquiriendo una apariencia opaca, rugosa, de color blanco, no adherente al medio de cultivo y ocasionalmente rodeada por polímeros de glucano de aspecto húmedo.

Esta bacteria es anaerobia facultativa (puede usar para su metabolismo oxígeno se encuentra presente en el medio ambiente, pero también sobrevivir cuando existe ausencia total de O₂), pero su crecimiento óptimo ocurre bajo condiciones de anaerobiosis. Algunas especies son capnofílicas es decir, que requieren CO₂ para poder crecer.

Este microorganismo produce polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa por la acción de dos enzimas: la glucosiltransferasa (GTF) y la fructosiltransferasa (FTF). La sacarosa es un disacárido formado por una molécula de glucosa y una de fructosa. La GTF es capaz de sintetizar glucano a partir de la glucosa, y la fructosiltransferasa, fructano, a partir de la fructosa.



Representación esquemática de la formación de polisacáridos extracelulares a partir de sacarosa.²

3.1.1. CLASIFICACIÓN

La incidencia de *S. mutans* en la etiología de la caries dental ha sido demostrada por la producción de lesiones cariosas después de su introducción en la cavidad bucal de animales libres de gérmenes.

Los estreptococos del grupo *mutans* son genéticamente diferentes y pueden ser subdivididos en distintos tipos. Esto ha sido posible por medio del estudio de estructuras antigénicas.

Lo que permite clasificar a los *S. mutans* en siete especies y ocho diferentes tipos serológicos (de la a hasta la g). Estos consisten en:

- *Streptococcus cricetus* (serotipo a)
- *Streptococcus rattus* (serotipo b)
- *Streptococcus mutans* (serotipos c, e y f)
- *Streptococcus sobrinus* (serotipos d y g)
- *Streptococcus downei* (serotipo h)
- *Streptococcus ferus* (serotipo c)
- *Streptococcus macacae* (serotipo h)^{16,17}

De estas especies los *S. mutans* y los *S. sobrinus* son las especies que están estrechamente asociadas con la caries dental; en particular, *S. mutans* han sido aislados más frecuentemente en la placa dental humana. *S. mutans* también ha sido referido como un agente causante de endocarditis bacteriana.^{15,17.}

Debido a la habilidad de *S. mutans* para producir caries dentales en animales libres de gérmenes, se describe como *S. mutans* "cariogénico"; esto se relaciona con su capacidad de producir ácido láctico al metabolizar la sacarosa.

S. mutans puede sintetizar polímeros extracelulares solubles (dextranos, fructanos) e insolubles (mutanos) a partir de la sacarosa. Los polímeros insolubles desempeñan un papel fundamental en la adhesión de *S. mutans* a la superficie dentaria. Por ese motivo no se aísla de la cavidad bucal antes de la erupción de los dientes temporarios.³

3.1.2. FACTORES DE CARIOGENICIDAD DE STREPTOCOCCUS DE GRUPO MUTANS

El poder cariogénico de los *Streptococcus mutans* es, aunque con algunas diferencias, muy similar en todas las especies y está muy ligado a la sacarosa, ya que tiene la capacidad de metabolizarla mucho más rápidamente que cualquier otro microorganismo de la cavidad oral. Desde el punto metabólico se muestran a continuación los factores relacionados con la cariogenicidad.

Factores Metabólicos de Cariogenicidad de los Streptococcus del grupo Mutans.

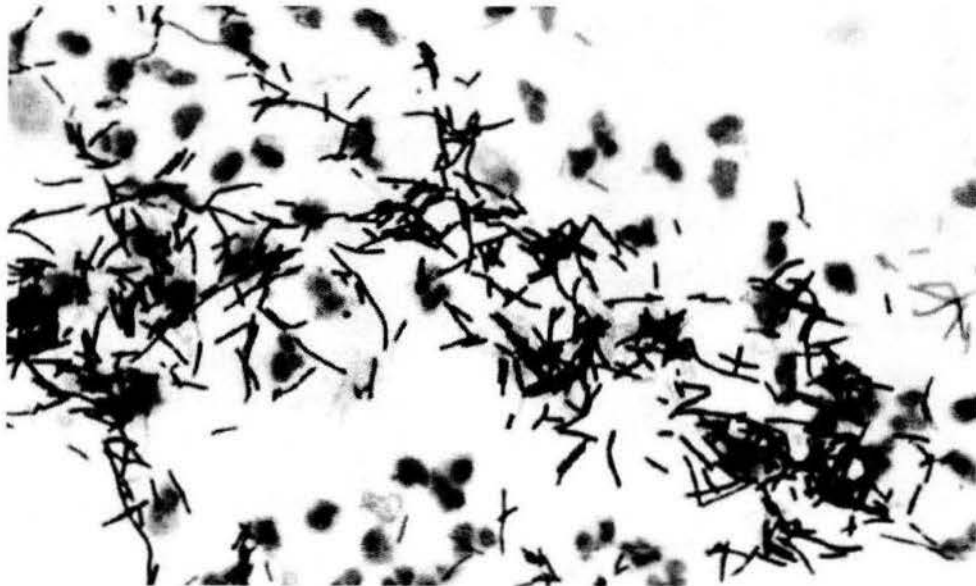
- Poder acidógeno. Producen ácidos.*
- Poder acidófilo. Son muy tolerantes a los ácidos.
- Poder acidúrico. Siguen produciendo ácidos a pH ácido.*
- Rápido metabolismo de los azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos.
- Pueden conseguir el pH crítico para la desmineralización del esmalte más rápidamente que cualquier otro microorganismo de la placa.
- Corto efecto post-pH.
- Producción de polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa y su movilización.

- Producción y movilización de polisacáridos intracelulares.*
- Producción de dextranasas y fructanasas.

*Los *S. sobrinus* posee algunas características diferentes del resto de las especies cariógenas para el hombre: tiene menor poder acidógeno pero es más acidúrico y no sintetiza polisacáridos intracelulares).⁷

3.2. LACTOBACILLUS SPP.

El nombre de este género quiere decir “pequeños bacilos de la leche”.



LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

Enciclopedia Microsoft® Encarta® 2002. © 1993-2001 Microsoft Corporation.

Actualmente son reconocidas unas 45 especies dentro del género *Lactobacillus*, diez de las cuales pueden ser aisladas de la cavidad bucal.

Las células tienen forma de bacilos grandes regulares, que miden de 0.5 a 1 µm por 1.5 a 5 µm pero algunas veces crecen como bacilos cocoides irregulares o curvados, dependiendo de las condiciones de cultivo y de la especie y suelen agruparse en cadenas. El tamaño de las cadenas y la cantidad de las curvaturas depende del medio de cultivo utilizado, del tiempo de incubación y de ciertos factores bioquímicos.¹⁸

Son microorganismos no esporulados e inmóviles; son Gram-positivos pero pueden tornarse Gram-negativos en cultivos envejecidos. Las colonias son usualmente blancas, convexas, lisas, circulares, enteras y con un diámetro de 2 a 5mm.

Los *Lactobacillus* tienen dos propiedades, a saber, son acidogénicos y acidúricos. Sobreviven y se reproducen en condiciones de acidez. Las especies de *Lactobacillus* crecen óptimamente bajo condiciones anaerobias pero son capaces de crecer en bajas concentraciones de Oxígeno si la atmósfera es suplementada con un 5-6% de CO₂. Tiene un metabolismo tanto fermentativo como oxidativo. ¹⁸

En la cavidad bucal se hallan especies de ambos grupos pero las homofermentativas son las más importantes en relación con la caries dental. Se les asocia con la progresión de la caries dental cuando el pH ya descendió a 5,4 ó menos. Así mismo son proteolíticos.

Especies de *Lactobacillus* están ampliamente distribuidas, siendo encontradas en plantas y en material descompuesto de plantas, leche y productos lácteos, en la boca e intestinos humanos y otros animales, y

algunos son una parte de la flora normal vaginal. Pueden ser aislados de aguas sucias y estiércol.

Aunque los *Lactobacillus* pueden ser importantes organismos en el deterioro de los alimentos, los cambios que ellos pueden hacer en productos alimenticios han sido usados como ventaja en un gran número de productos tradicionales fermentados, incluyendo quesos y yogurt.

Estos microorganismos generalmente no son considerados como patógenos importantes algunas especies ocasionalmente son asociadas con manifestaciones clínicas. En pocos casos las especies de *Lactobacillus* han sido asociadas con endocarditis, septicemia y abscesos intrabdominales, y son frecuentemente aislados en infecciones del tracto urinario.

Algunas pueden ser implicadas pero la posible patogenicidad de *Lactobacillus casei* puede estar relacionada a la producción de un polisacárido capsular. De las 45 especies sólo tres (*L. plantarum*, *L. salivarius* y *L. oris*) han sido regularmente aislados de muestras orales. Otras especies que colonizan en la boca incluyen *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. rima* y *L. uli*.

***L. oris*:** esta especie fue elegida por aislamiento oral previamente asignado a *L. brevis*. Su significado específico es *de la boca*. Las células de *L. oris* son bacilos regulares que miden de 0.8 a 1µm por 2 a 4µm, encontrándose individualmente, en pares o en cadenas. Son inmóviles. Las colonias usualmente son pequeñas, y tienen una superficie áspera o semiáspera. Es anaerobio facultativo. Fue creado como una nueva especie sobre las diferentes bases bioquímicas y genéticas del *L. brevis*. Aislado en saliva humana *L. oris* ninguna implicación patogénica se ha conocido, oral o extraoralmente.

***L. plantarum*:** primero descrita como *Streptobacterium plantarum*, significa *de plantas*. Son bacilos regulares con extremos redondos que miden 0.9 a 12µm por 3 a 8µm, encontrándose individualmente o en

cadenas. Es aislado frecuentemente en saliva humana, tracto intestinal, heces y aguas negras. También está presente en cremas agrias y vegetales en escabeche. *L. plantarum* ha sido cultivado de abscesos, bacteremia y septicemia aguda.

***L. salivarius*.** Significa *salival* son bacilos regulares con extremos redondos que miden de 0.6 a 0.9 X 1.5 a 5µm y se encuentran individualmente o en cadenas. Es homofermentativo estricto sólo produce ácido láctico. Es aislado de saliva, *L. salivarius* también coloniza el tracto intestinal de humanos, hamsters y pollos.¹⁸

En la cavidad bucal dos especies: *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus salivarius*; ambas son homofermentadoras y metabolizan la glucosa, con elevada producción de ácido láctico.

Otras dos especies, representadas por *L. fermentum* y *L. brevis*, son heterofermentadoras, y degradan la glucosa, producen ácido láctico, etanol o ácido acético. Además hay dos especies, *L. casei* y *L. plantarum*, que utilizan ambas vías para degradar la glucosa y que se denominan heterofermentadoras facultativas.

Las restantes especies que han sido aisladas de la cavidad bucal incluyen *L. crispatus*, *L. gasseri* (homofermentativas) y *L. buchneri* (heterofermentativas), pero respecto a ellas no hay evidencias de patogenicidad.²

3.2.1. CLASIFICACIÓN.

El modo de fermentación permite dividir a los lactobacilos en tres grupos, también difieren enzimáticamente:

HOMOLÁCTICOS.- Los que sólo producen ácido láctico a partir de glucosa, usando la vía de Embden-Meyerhof-Parnas, y originan únicamente, no fermentando ni pentosas ni gluconato, ni produciendo CO_2 .

HETEROLÁCTICOS ERICTOS.- Los que producen iguales cantidades de ácido láctico, ácido acético o etanol y CO_2 . Usando la vía 6-Fosfatogluconato.

HETEROLÁCTICOS FACULTATIVOS.- Degradan la glucosa por la glucólisis sin formar CO_2 , pero en presencia de gluconato lo incorporan por la ruta Entner-Doudoroff y siguen las vías pentosas fosfato y de la fosfocetolasa, elaborando los mismos compuestos que en el grupo anterior, y por tanto CO_2 .

***Distribución de especies de Lactobacillus según su actuación
sobre hidratos de carbono.***

HETEROFERMENTATIVOS	HETEROFERMENTATIVOS ESTRICTOS	HETEROFERMENTATIVOS FACULTATIVOS
<i>L. acidophilus*</i>	<i>L. bif fermentans</i>	<i>L. alimentarius</i>
<i>L. gasseri*</i>	<i>L. brevis*</i>	<i>L. casei*</i>
<i>L. salivarius*</i>	<i>L. oris*</i>	<i>L. coyniformis</i>
<i>L. animalis</i>	<i>L. buchnerii</i>	<i>L. curvatus</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>L. collinoides</i>	<i>L. maltaromicus</i>
<i>L. farciminis</i>	<i>L. confusus</i>	<i>L. plantarum*</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>L. divergens</i>	<i>L. sake</i>
<i>L. yamanashiensis</i>	<i>L. fermentum*</i>	
<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. haloterans</i>	
	<i>L. hilgardii</i>	
	<i>L. kerfir</i>	
	<i>L. reuteri</i>	
	<i>L. viridescens</i>	
	<i>L. rimae*</i>	
	<i>L. uli*</i>	

* Especies más frecuentes aisladas en la cavidad oral humana. Tomada de Microbiología Oral . Liébana Ureña José.

3.2.2. FACTORES DE CARIOGENICIDAD DE LACTOBACILLUS SPP.

En un principio se pensó que estaban implicados en el inicio de la caries, ya que además de ser acidógenas y acidúricas son muy acidófilas. Hoy día, la opinión general es que no lo están al comienzo pero sí, en la progresión de la caries, en la profundidad del esmalte y de la dentina, es decir, en el avance del proceso de caries. Su número es mayor en la saliva de los pacientes con un gran número de lesiones cariosas, y algunas investigaciones lo han relacionado con la actividad de caries, aunque no es un buen factor de predicción de enfermedad.¹⁹

Factores Metabólicos de Cariogenicidad de Lactobacillus spp.

- Poder acidógeno.
- Elevado poder acidófilo.
- Poder acidúrico.
- Algunas cepas sintetizan polisacáridos extra e intracelulares a partir de la sacarosa.
- Discreta actividad proteolítica.¹⁹

3.3. METABOLISMO DE LA SACAROSA.

El tránsito de alimentos por la cavidad oral proporciona azúcares a las bacterias, que éstas fermentan generando energía, expulsando desechos metabólicos en forma de ácidos orgánicos o acumulando productos de reserva como polisacáridos extra o intracelulares. Es la sacarosa, un disacárido de glucosa más fructosa, el hidrato de carbono que en mayor cantidad consume el hombre por ello se entiende que el que con más facilidad y en mayor cuantía utilizan las bacterias orales y en especial los estreptococos.

Siendo así, un consumo frecuente de productos con alta concentración de sacarosa aumenta la actividad cariosa.

Si la disponibilidad de sacarosa en el metabolismo bacteriano determina un pH menos ácido en la interfase placa-esmalte y la caries no se produce.

El metabolismo de la sacarosa incluye:

- 1.- Producción de ácidos.
- 2.- Síntesis de polisacáridos extracelulares.
- 3.- Síntesis de polisacáridos intracelulares,

Producción de ácidos.

Sólo una pequeña parte de la sacarosa es derivada para la formación de polisacáridos extra e intracelulares: la mayor parte de ella se utiliza como fuente energética para el desarrollo bacteriano. La fermentación homoláctica de glucosa produce ácido láctico.^{6,19}

Ya en el interior de la célula, la sacarosa se encuentra bajo la forma de sacarosa y sacarosa 6P. (Esquema1) En el primer caso, por enzimas tipo invertasas se origina fructosa y glucosa, que fosforilizándose da glucosa 6-P. En el segundo caso, por la acción de la sacarosa 6-P hidrolasa, surgen glucosa 6-P y fructosa. Ambos azúcares, glucosa y fructosa, seguirán la vía glucolítica de Embden- Meyerhof- Parnas para rendir fundamentalmente lactato ya que estas bacterias son prácticamente homolácticas, aunque se producen también pequeñas cantidades de formato, acetato y etanol.

- Sistema de Transporte y Entrada en la Célula Bacteriana.

Existen al menos dos mecanismos de transporte al interior de estas bacterias: sistema fosfoenolpiruvato fosfotransferasa y el ligado a permeasas.

❖ SISTEMA DE LA FOSFOENOLPIRUVATO-FOSFOTRANSFERASA

De todos los mecanismos de ingreso de nutrientes en el interior bacteriano, el más eficaz para los *Streptococcus* del grupo *mutans* y en general para todos los orales, referidos a la sacarosa y otros hidratos de carbono, es el sistema de la **fosfoenolpiruvato-fosfotransferasa** (traslocación de grupos) esto es así basándose en los siguientes hechos.

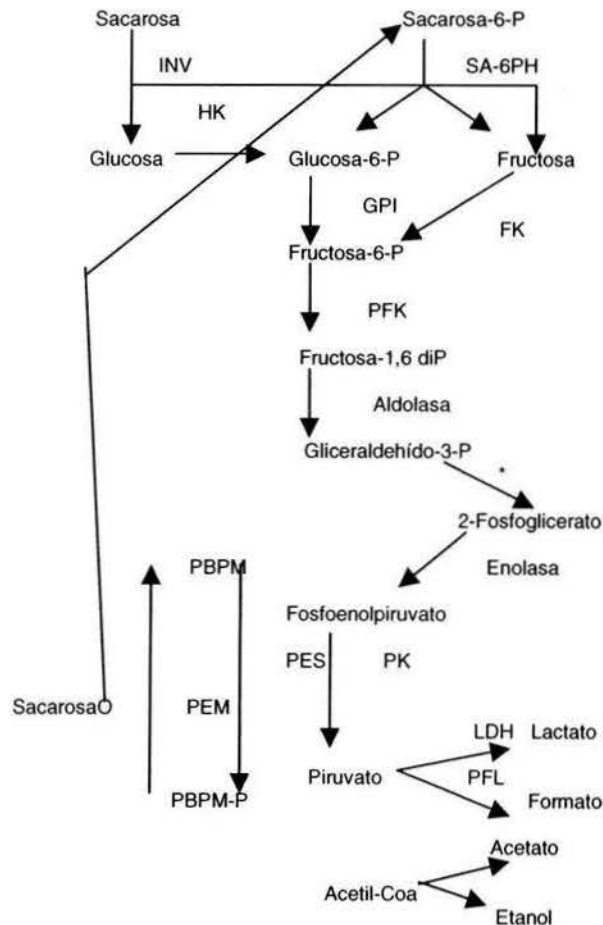
Requiere la participación de complejo fosfotransferasa, constituido por una proteína enzimática soluble (PES), otra ligada a la membrana bacteriana (PEM) y una proteína de bajo peso molecular (PBPM). La PES cataliza la transferencia de fosfato del fosfoenolpiruvato a la PBPM,

originando PBPM-P. La PEM transfiere el fosfato de la PBPM-P al azúcar, que fosforilado pasa al interior celular.

La piruvatocinasa es el eslabón que regula el sistema, de forma que con bajas concentraciones de sacarosa extracelular o de glucosa-6-P y fructosa-1,6-diP intracelular se inhibe la enzima, y el fosfoenolpiruvato es utilizado fundamentalmente como elemento de transporte. Con grandes concentraciones extra e intracelulares de sacarosa, los sistemas enzimáticos bacterianos no son capaces de depurar todos los productos intermediarios de la glucólisis. Estos se acumularían y resultarían tóxicos (azúcar asesino). En estas condiciones, además de sintetizarse polisacáridos de reserva, se activaría la piruvatocinasa, aumentan los niveles de piruvato y se activaría la lactato deshidrogenasa, eliminándose elevadas cantidades de lactato (puerta de lactato) y menores de formato, etanol a través de la piruvato formato liasa; de esta forma, se drenan de la célula los productos que le son nocivos. Entonces se simplifica de la siguiente forma:

- 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.
- El azúcar ingresa fosforilado, lo que supone una reserva energética.
- Los componentes de la translocación de grupo son 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. (Esquema 1)

ESQUEMA 1. DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS POR LOS STREPTOCOCCUS MUTANS Y SISTEMA FOSFOENOLPIRUVATO FOSFOTRANSFERASA



INV: invertasa; SA-6 PH; sacarosa-6 fosfato hidrolasa; HK: hexocinasa; GPI: glucosa-fosfato isomerasa; PFK: fosfo-fructocinasa; PK; piruvatocinasa; LDH: lactato deshidrogenasa; PFL: piruvato formato liasa; PES, PEM y PBP: proteínas del complejo fosfotransferasa. * Varias enzimas.

Tomada de Microbiología Oral . Liébana Ureña José. 1997

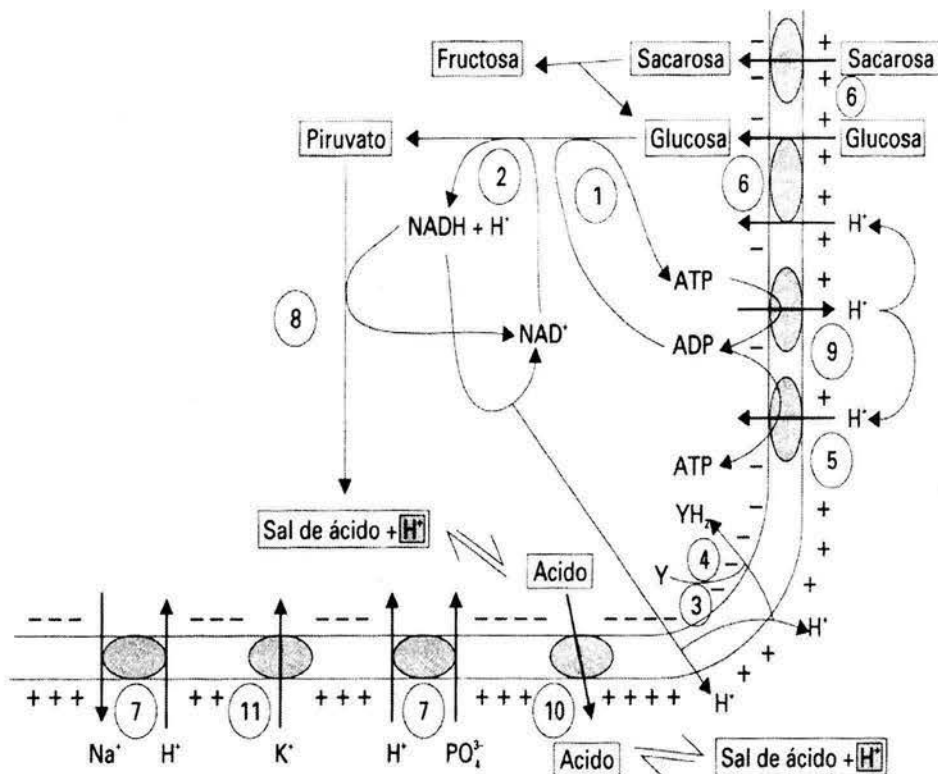
❖ SISTEMA DE TRANSPORTE LIGADO A PERMEASAS.

Actuaría ante concentraciones elevadas de sacarosa extracelular. La metabolización de hidratos de carbono en general y de la sacarosa en particular, en el caso que nos ocupa, determina la liberación de electrones que son transferidos a NAD^+ (2), y cuya finalidad es la génesis de la energía mediante la síntesis de ATP a partir de ADP. La energía se conserva también por la creación de un gradiente de protones y el potencial eléctrico a través de membrana que determina una fuerza motriz, bien a través de la cadena transportadora de electrones a nivel de membrana (3), bien con pérdida de energía (ATP-ADP) mediante ATPasas que requieren Mg^{++} y Ca^{++} (9), o a través de la salida de productos metabólicos finales ácidos como lactato (8 y 10). De esta forma, se crea un gradiente de protones, con lo que, por un lado, el K^+ penetra en el interior de la bacteria para compensar dicha pérdida (11). Por otro lado estos protones pueden también introducirse en la célula, utilizando la fuerza motriz ocasionada, para sintetizar ATP a partir de ADP (5). Finalmente, otros protones ingresan acoplados a la entrada o salida de iones como Na^+ y PO_4^{3-} (7), y lo mismo puede ocurrir con la sacarosa, que penetraría en el citoplasma mediada por una molécula portadora (6).

Este otro sistema de ingreso de sacarosa usado por estas bacterias; el de gradiente de protones y, en su caso, el simporte 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; a) el azúcar no entra fosforilado; b) la especificidad de las permeasas parece ser inferior y c) en la práctica, aunque no funciona a favor de un gradiente, requiere elevadas concentraciones de sustrato extracelular, por lo que no resulta adecuado ante bajas concentraciones ambientales.

Los otros sistemas de transporte, como la difusión simple o facilitada, sólo actuarían ante situaciones de elevadas concentraciones extracelulares de sacarosa.^{6,1}

SISTEMA DE TRANSPORTE DE HIDRATOS DE CARBONO LIGADO A PERMEASAS



Funciones de transporte y conservación de energía de una célula bacteriana. La energía se conserva mediante el ATP por la fosforilación a nivel de sustrato, por reacciones que dan electrones durante la degradación de la glucosa hasta piruvato (1). Los electrones se transfieren al NAD^+ (2). La energía se conserva también por la creación de un gradiente de protones y el potencial eléctrico a través de la membrana. Esta fuerza motriz de protones es generada por la acción de una cadena de transporte electrónico en la membrana (3), por una ATPasa que funciona en dirección hidrolítica (9) y por la expulsión de productos metabólicos ácidos (10), "Y" (4) podría ser oxígeno, nitrato, nitrito o fumarato. La fuerza motriz de protones generada puede ser usada para la síntesis de ATP (5), o el transporte de azúcares (6) e iones (7). La reacción (8) es una reacción de aceptación de electrones no directamente enlazados con la generación de una fuerza motriz de protones, aunque sí indirectamente. K^+ penetra para compensar la pérdida de protones (11). (Modificado de Thylstrup A, Fejerskov O, 1988).

Tomada de Microbiología Oral . Liébana Ureña José. 1997.

❖ VÍA GLUCOLÍTICA DE EMBDEN- MEYERHOF- PARNAS

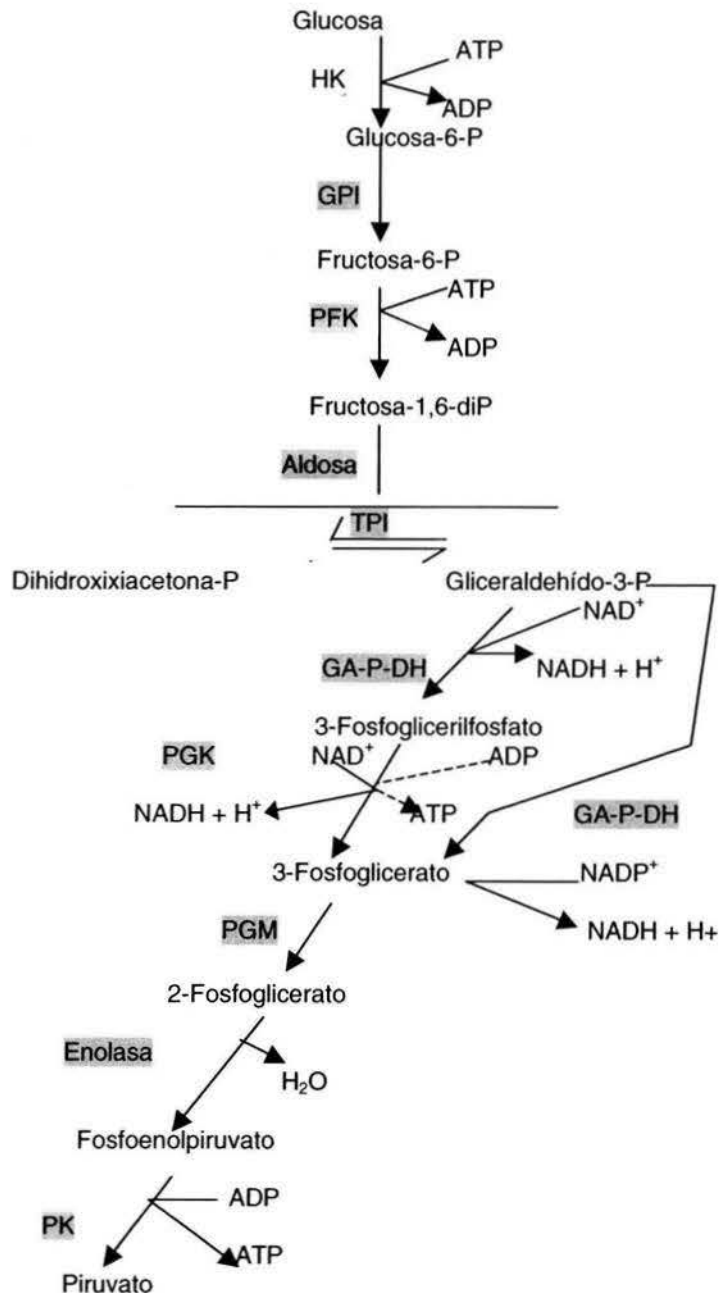
Esta vía es mejor conocida como **Glucólisis** (Esquema 2) que es la ruta metabólica mediante la cual la glucosa se transforma de piruvato, formándose dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa. Ese ATP se origina mediante las reacciones de fosforilación a nivel de sustrato catalizadas por la fosfo-gliceratocinasa y la piruvatocinasa. Además en esta ruta se generan dos moléculas de dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido (NADH) por la molécula de glucosa, capaces de originar ATP en la fosforilación oxidativa acoplada a la cadena de transporte electrónico. El lactato es un producto de estos microorganismos anaerobios que son capaces de efectuar la fermentación a ácido láctico a partir del azúcar. La fermentación es un término general que indica la degradación anaeróbica de la glucosa o de otros elementos nutritivos orgánicos originando diversos productos, a fin de obtener energía en forma de ATP. Es una reacción que no requiere de la participación de una cadena de transporte electrónico, el sustrato orgánico experimenta una serie de reacciones de oxido-reducción equilibradas, en las que finalmente y para mantener dicho equilibrio, los NADH y NADPH generados en las diversas rutas van a ser oxidados (NAD^+ y NADP^+). El ATP se originará mediante fosforilaciones a nivel sustrato. Los diferentes catabolitos (producto de un proceso metabólico) de los procesos de fermentación dan nombre al proceso (por ejemplo: fermentación láctica, acética, butírica).^{6,19}

La glucosa es transformada por la vía glucolítica hasta piruvato a partir de aquí los estreptococos siguen la denominada vía de la piruvato formato liasa, formándose formato y acetil CoA y a partir de éste, acetato y etanol y, especialmente la vía de la lactato deshidrogenasa con formación de lactato, que es el producto final más importante, hasta el 80% del total de los ácidos. Por ello, estas bacterias pueden considerarse como homofermentadoras para el lactato. Aún así, como la piruvato formato

liasa se inactiva en presencia de oxígeno, para medir la cantidad total, de ácidos deberá utilizarse una atmósfera anaerobia.

Con respecto a la producción de ácidos hay que tener en cuenta que estas bacterias son acidógenas, acidófilas, y acidúricas, poseen un corto efecto post-pH y son capaces de iniciar su desarrollo a pH 5. Su tolerancia a los ácidos especialmente se debe: a) buena actividad de una ATPasa en sentido de expulsar protones; b) eliminación del azúcar asesino mediante la puerta del lactato y c) síntesis de proteínas.^{6,19}

ESQUEMA 2. GLUCÓLISIS



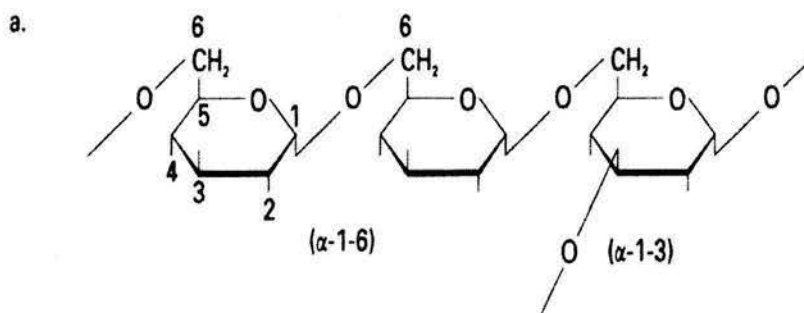
GA-P-DH: gliceraldehído-fosfato deshidrogenasa; GPI: glucosa-fosfato isomerasa; HK: hexocinasa PFK: fosfofructocinasa; PGK: fosfo-gliceratocinasa; PGM: fosfogliceratomutasa; PK: piruvatocinasa; TPI: triosafosfato isomerasa.

Tomada de Microbiología Oral . Liébana Ureña José. 1997.

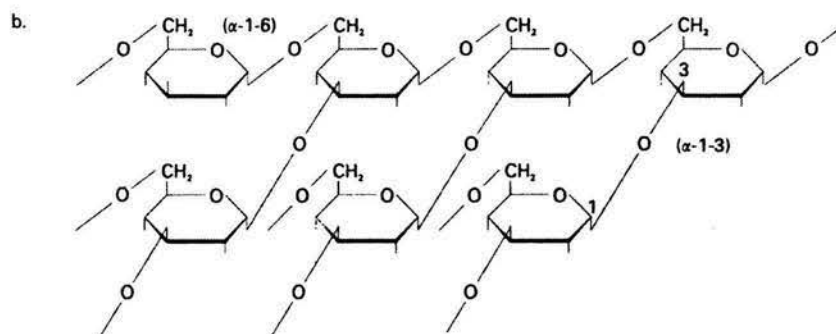
3.3.1. SÍNTESIS DE POLISACÁRIDOS EXTRACELULARES.

Los *Streptococcus* del grupo *mutans*, son capaces de sintetizar homopolisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa, que son de tres tipos: **glucanos hidrosolubles (dextranos)**, **glucanos hidroinsolubles (mutanos)** y **fructanos**.^{6,19}

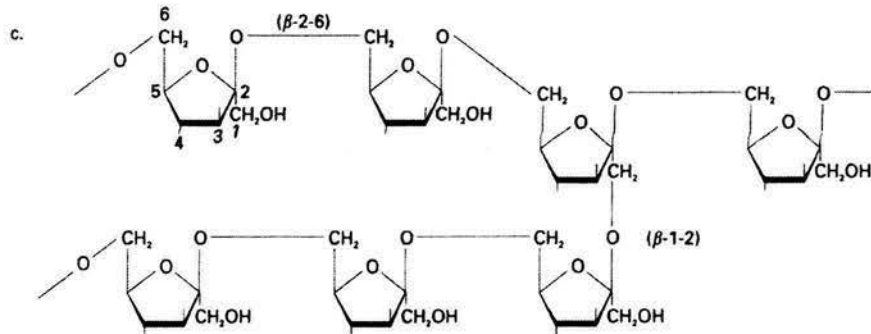
DEXTRANOS.- los enlaces alfa (1-6) con ramificaciones alfa (1-2), alfa (1-3) y alfa (1-4);



MUTANOS.- En los insolubles predominan los alfa (1-3) con ramificaciones alfa (1-6).

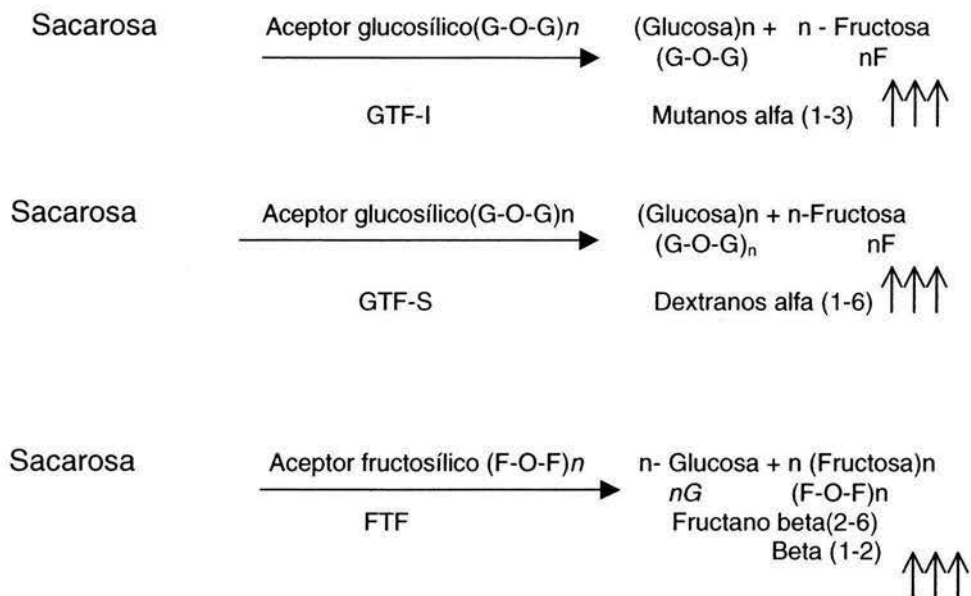


FRUCTANOS.- En los fructanos, que también son hidrosolubles, las uniones beta (2-6) y beta (1-2),



Imágenes tomadas de Microbiología Oral . Liébana Ureña José. 1997.

La formación de estos polímeros se debe a una o varias enzimas extracelulares denominadas **glucosiltransferasas** (GTFs) y **fructosiltransferasas** (FTFs), que escinden la molécula de sacarosa y polimerizan los monosacáridos, transfiriendo grupos glucocílicos o fructocílicos, respectivamente, a aceptores de glucanos o fructanos preexistentes.



Tomada de Microbiología Oral . Liébana Ureña José. 1997.

Las GTF que determinan la formación de glucanos insolubles son de peso molecular elevado (GTF-I), mientras que las que lo hacen con glucanos solubles y los fructanos son fácilmente degradables por enzimas de tipo glucanasas y fructanasas rompiendo los enlaces alfa (1-6), beta (2-6) y beta (1-2); esto determina que se obtengan productos más sencillos utilizables por las mismas bacterias que los sintetizan o por otras que posean tales enzimas; tienen pues una función nutricional en ausencia de aporte exógeno de azúcar. Por el contrario los glucanos insolubles son más difícilmente degradables por las bacterias y poseen mayores propiedades adherentes, interviniendo en las denominadas uniones mediadas por glucanos, decisivas en la formación de las placas bacterianas y en las que también participan las propias GTF y receptores del hospedador o de las bacterias para los glucanos y las enzimas.

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 estreptococos del grupo mutans tienen glucosiltransferasas (incluso poseen varios tipos de ellas reguladas por distintos genes), tanto las que producen los glucanos insolubles como las que generan glucanos solubles. Por ejemplo, la especie *S. mutans* posee tres tipos, las reguladoras por los genes *gtfB* y *gtfC* (GTF-I), forman glucanos insolubles y la regulada por el gen *gtfD* lo hace con los solubles (GTF-S). Por el contrario, no todas las especies del grupo poseen fructosiltransferasas (FTF).^{6,19}

La importancia de estos compuestos en la cavidad oral radica en: a) los glucanos insolubles forman una parte de la matriz acelular de las placas y, además, son fundamentales en los fenómenos de adhesión a tejidos del hospedador, a compuestos biocompatibles y entre bacterias y

b) 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 alfa (1,6), *beta* (1,2) y *beta* (2,6), lo que les permite ante la falta de nutrientes, obtener compuestos simples metabolizables.

Esto hace que se obtengan productos más sencillos utilizables por las mismas bacterias que los sintetizan o por otras que posean tales enzimas. Por ello, suelen desaparecer con facilidad del material abiótico que constituye las placas dentales. Por el contrario, los glucanos insolubles son degradados con dificultad por las bacterias, poseen propiedades adherentes y forman parte importante de la matriz acelular de la placa; de esta manera al ser difícilmente retirados, se convierten en los principales glucanos que se unirán a proteínas fijadoras, y son los que más intervienen en los fenómenos de acumulación bacteriana.^{6,19}

3.3.1. SÍNTESIS DE POLISACÁRIDOS INTRACELULARES.

Habitualmente se trata de homopolisacáridos (que contienen un solo tipo de unidad monomérica, como el glucógeno. Ver su estructura en el Esquema 3.), son elementos muy importantes como reserva nutricional como ya se ha establecido, ya que pueden ser movilizados ante la falta exógena de nutrientes.

Es lo que ocurre con los *Streptococcus* del grupo *mutans*, que ante el déficit de sacarosa los metabolizan y siguen produciendo ácidos; se convierten así en uno de sus factores de cariogenicidad. Esquema (4).

Tras la hidrólisis de la sacarosa o a partir de la sacarosa 6-P la glucosa 6-P resultante es, convertida en glucosa-1-P

Una vez que la sacarosa es escindida intracelularmente, la glucosa-6-P puede ser convertida en glucosa-1-P por una fosfoglucomutasa. Ante la presencia de elevadas concentraciones de productos intermedios de la glucólisis (abundancia de azúcar disponible), se activa una ADP-glucopirofosforilasa que induce a la formación de ADP-glucosa. Esta última mediante un glucógeno sintetasa, es polimerizada a glucógeno, con predominio de enlaces alfa (1,4) y algunos alfa (1,6). Si falta sacarosa, cuando los niveles de productos intermedios disminuyen, de forma especial fosfoenolpiruvato se activa una glucógeno fosforilasa que degrada el glucógeno para que se forme glucosa. Así estas bacterias en situación deficitaria nutricional pueden obtener la energía necesaria para su supervivencia hasta agotar las reservas de glucógeno.

Entonces el proceso se inicia a partir de la glucosa 6-P formada en el curso de la glucólisis. Las reacciones que acontecen se ven en el esquema 4. 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 intracelulares (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.

. De esta manera se evita, la acción tóxica de la azúcar asesina ante un exceso de aporte exógeno de sacarosa y por otra parte se fabrica un material de reserva de gran utilidad en ausencia de aporte exterior. Cuando falta esta azúcar, o cuando los niveles de fosfoenol piruvato están bajos, se activa una glucógeno fosforilasa que agotaría las reservas de polisacáridos intracelulares.^{6,19}

La importancia del metabolismo de los azúcares, de forma especial la sacarosa, para los *S. mutans* puede resumirse en tres puntos:

1.- Ante una gran disponibilidad de azúcares, ocurren los siguientes acontecimientos:

- Síntesis de polisacáridos extracelulares;
- Síntesis de polisacáridos intracelulares;
- Ingreso por difusión simple, por difusión facilitada, gradiente de protones y simporte de sodio.
- Activación de la piruvatocinasa y de la lactato deshidrogenasa, abriéndose la puerta del lactato, y actuación de la ATPasa en sentido extracelular.

- Incremento de la producción de ácido láctico y descenso del pH.

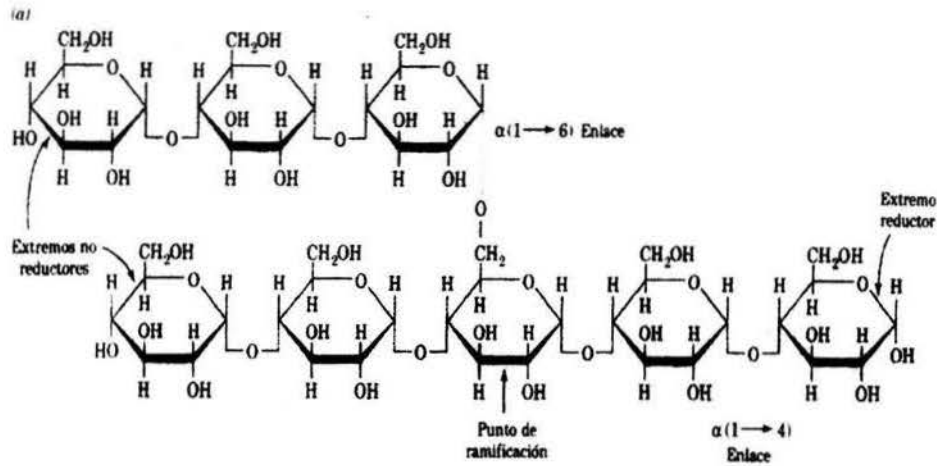
2.- Ante la escasa disponibilidad de azúcares, se producen los siguientes procesos:

- Movilización de polisacáridos extracelulares.
- Movilización de polisacáridos intracelulares.
- Ingreso, especialmente por translocación de grupo.
- La piruvatocinasa se inhibe, se cierra la puerta del lactato y el fosfoenolpiruvato se utiliza para el sistema de la fosfoenolpiruvato-fosfotransferasa.
- 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:

- Síntesis de polisacáridos extracelulares.
- Síntesis de polisacáridos intracelulares.
- Activación de la piruvatocinasa.
- Apertura de la puerta de lactato.

ESQUEMA 3. GLUCÓGENO.



(b)

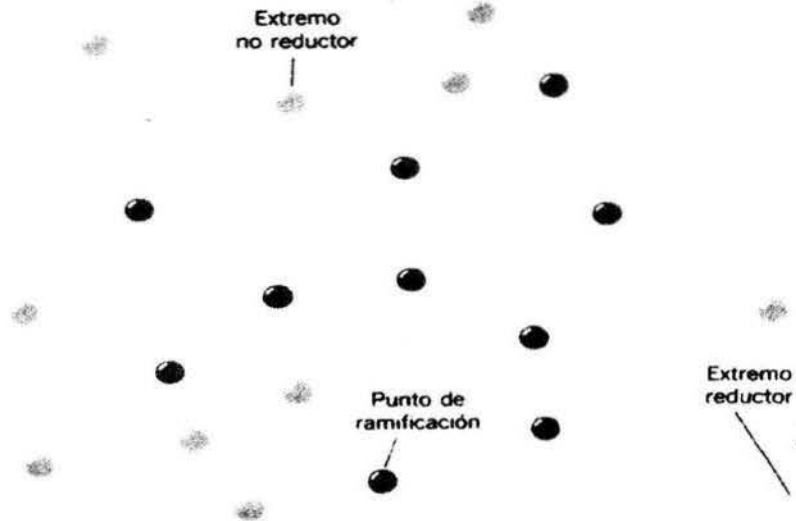
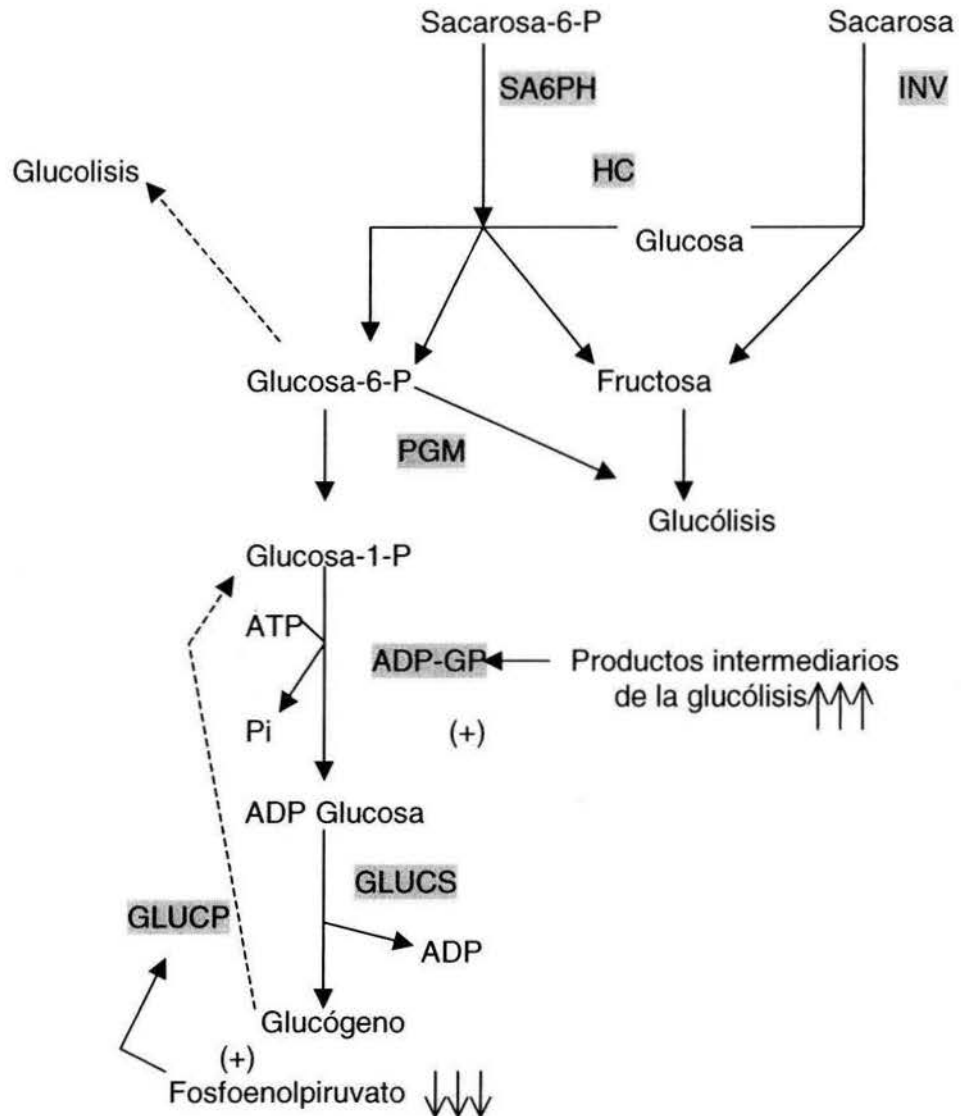


Figura 17-1

Estructura del glucógeno. (a) Fórmula molecular. En la molécula real, las cadenas son mucho más largas de lo que se muestra aquí. (b) Esquema que muestra su estructura ramificada. Los puntos de ramificación en la molécula real están separados por 8-12 unidades glucosilo. Obsérvese que la molécula, por grande que sea, tiene solamente un extremo reductor.

ESQUEMA 4. SÍNTESIS DE POLISACÁRIDOS INTRACELULARES



PGM: fosfoglucomutanasa; ADP-PP: ADP-glucopirofosforilasa; GLUCS: glucógeno sintetasa; GLUCP: glucógeno fosforilasa.



4. PRUEBAS DE ACTIVIDAD DE CARIES, IMPORTANCIA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA PREVALENCIA DE CARIES.

La caries dental es un proceso patológico de destrucción de los tejidos dentales, causada por microorganismos. Las pruebas de actividad de caries se han empleado durante muchos años en la investigación dental, y algunas de estas se han adaptado para el uso rutinario en el consultorio dental. En la actualidad no existe una prueba ideal.

Se han descrito numerosas pruebas de actividad de caries en la literatura mundial. El hecho más significativo de que se hayan elaborado innumerables pruebas, nos demuestran que los investigadores están interesados en predecir si existe susceptibilidad individual, y esto sugiere dos cosas:

- 1.- Que existe una necesidad muy clara de que se establezca una buena prueba.
- 2.- De que los métodos que en la actualidad se emplean, ninguno es completamente satisfactorio.

Alguno de los usos propuestos para llevar a cabo una prueba exacta de la susceptibilidad a la caries son los siguientes:

Para el clínico:

1. 1. Determinar la necesidad de establecer medidas de control de la caries.
2. 2. Actuar como indicador de la cooperación del paciente.
3. 3. Ayudar a la determinación de cuando se deben conceder las citas de control.
4. 4. Como una guía en la inserción de restauraciones costosas.
5. 5. Ayudar en la determinación del pronóstico.
6. 6. Actuar como una señal preventiva para el ortodoncista en la colocación de bandas.

Para el investigador:

1. 1. Como ayuda en la selección de los pacientes para el estudio sobre caries.
2. 2. Como ayuda en la selección de agentes potencialmente terapéuticos
3. 3.3. Servir como indicador de los períodos de exacerbación y de remisión.

4.1. PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS.

Las pruebas microbiológicas aportan información sobre los niveles en la saliva de las bacterias cariógenas: *S. mutans* y *Lactobacillus* spp. Actualmente existen dispositivos comercializados que permiten al clínico evaluar el nivel cuantitativo de estas bacterias en sus pacientes. Para estas determinaciones, se utilizan laminocultivos que son inoculados a partir de muestras de saliva completa estimulada y se compara la densidad de crecimiento de colonias en la lengüeta con una tabla de densidad ya establecida. Los resultados se interpretan como unidades formadoras de colonias por mililitro de saliva (UFC/ml). Se considera como pacientes de alto riesgo a aquellos que presentan valores iguales o superiores a 10^5 UFC/ml para *Lactobacillus* spp y más de 10^6 para los estreptococos del grupo mutans. Son de bajo riesgo cifras inferiores a 10^3 UFC/ml para *Lactobacillus* spp. e inferiores a 10^5 para los estreptococos del grupo mutans.

La evaluación microbiológica del riesgo de caries es diferente de las otras enfermedades infecciosas. Al ser un proceso multifactorial, la presencia de un gran número de bacterias cariógenas no implica necesariamente el desarrollo de lesiones, debido a que otros factores pueden compensar el ataque bacteriano como el uso de fluoruros o la correcta higiene oral.⁷

4.2. CUANTIFICACIÓN DE STREPTOCOCCUS DEL GRUPO MUTANS EN SALIVA.

La dentición humana es el hábitat natural de los *S. mutans*. Tienen un sitio localizado para crecer, lo que significa que en la boca de una persona algunos dientes pueden albergar bacterias en tanto que otros no. Las concentraciones de **S. mutans** en la saliva y en la placa de los dientes revelan los sitios colonizados en la boca. **A mayor recuento de *S. mutans* en los dientes, más caries.** En los seres humanos pueden encontrarse varias cepas diferentes, la prevalencia varía con la edad y la población. Los habitantes más comunes son el *S. mutans* y el *S. sobrinus*. Aproximadamente de 10 a 30% de una población tiene concentraciones bajas de bacterias mientras que de 10 a 50% está muy colonizado.⁵

Las evaluaciones cuantitativas del *S. mutans* en la saliva y en la placa se realizan en el laboratorio sobre placas de agar con un medio selectivo, el agar para estreptococos. Se practica una dilución seriada de la muestra y una parte se coloca en la superficie del agar con una pipeta. Después de cuatro días de incubación anaerobia, se cuentan las unidades formadoras de colonias (UFC). Las bacterias tienen una apariencia morfológica distintiva y es posible diferenciarlas de diversas cepas. Se han sugerido variaciones para su adopción y fácil empleo en el consultorio dental, es decir, impresiones directas con una espátula de madera en placas de agar. Sin embargo, su corta vida de almacenamiento, combinada con los exigentes requisitos de incubación, hacen que el recuento se realice mejor en el laboratorio de investigación. Si bien estos valores no son absolutos, brindan una guía para el tratamiento de una infección producida por *S. mutans*, según el número de piezas totales que posea el individuo.⁵

Hay procedimientos que puede realizar el odontólogo para detectar y modificar la magnitud de una infección por estos microorganismos.

La mayoría de las pruebas para el recuento de *S. mutans* han empleado agar mitis salivarius-sacarosa-bacitracina como medio selectivo. Que permite sólo el desarrollo del microorganismo investigado. En general, poseen un bajo grado de sensibilidad pero relativamente alta especificidad; por lo tanto no son útiles para predecir qué pacientes desarrollarán caries, basándose en los niveles de *S. mutans* en saliva, pero son eficaces en predecir que pacientes con bajos niveles de *S. mutans* tendrán bajo desarrollo de la enfermedad.¹

Las pruebas más empleadas en la actualidad son *Cariescraen* y *Dentocult*.

DENTOCULT.

El método más común en la actualidad es la técnica de *Strip Mutans* (DENTOCULT -SM), desarrollada por Jensen y Bratthall. Este aprovecha la capacidad de los *S. mutans* para crecer sobre una superficie dura en un medio selectivo parecido a la saliva, el cual contiene 20% de sacarosa.

El kit incluye una tira de plástico redonda especialmente preparada para el muestreo, su superficie es ligeramente rugosa en un lado para promover la adherencia bacteriana. Quince minutos antes del muestreo se agrega al caldo una tableta de 5µg de bacitracina, como es posible agregarla antes de su uso se prolonga su vida de almacenamiento en relación con las placas de agar. Después de masticar la parafina durante dos minutos, se da vuelta a la tira de plástico un par de veces sobre el dorso de la lengua y se retira mediante los labios levemente cerrados, de manera que quede

cubierta con una cantidad definida de película salival. La tira de inmediato se adhiere a un tapón con el cual se cierra un frasco de vidrio y se incuba a 37° C durante 48 horas.

Las colonias de *S. mutans* aparecerán en la tira como pequeños puntos azules, pero pueden variar de azul oscuro a claro. La densidad de las colonias se evalúa con una carta proporcionada por el fabricante. Y se califica de 0 a 3, las calificaciones 2 y 3 corresponden aproximadamente a 1×10^5 y $> 1 \times 10^6$ UFC/ml de saliva, respectivamente. Una vez secas las tiras también se pueden evaluar y dividir en grupos con un estereomicroscopio con aumento de 6 a 25. La técnica de tira ha mostrado confiabilidad y está relacionada con las técnicas convencionales. Algunas veces en el caldo pueden crecer bacterias formadoras de gas o no mutans (grisáceas), pero no en la tira. Además en el fondo del tubo pueden encontrarse grandes colonias de *S. mutans*, las cuales normalmente se desprenden de lado liso de la tira, pero no afectan la calificación. Una ventaja de este método es que las tiras pueden almacenarse durante años en una bolsa de plástico en un expediente para comparaciones futuras.

Recientemente se ha desarrollado una modificación adicional de la técnica de tira par el diagnóstico de la palca microbiana específica del sitio. El muestreo de los sitios seleccionados se realiza con un palillo de dientes de madera o con un pequeño pincel mojado en solución salina y se transfiere directamente a una almohadilla elevada colocada sobre la tira, lo que permite el muestreo de cuatro sitios en cada tira. Después del procedimiento de incubación descrito antes se cuentan las UFC y se califican en una superficie predeterminada bajo microscopio o con ayuda de un diagrama. Este método es, en especial, útil para la vigilancia del resultado de una acción antibacteriana específica de sitio.¹

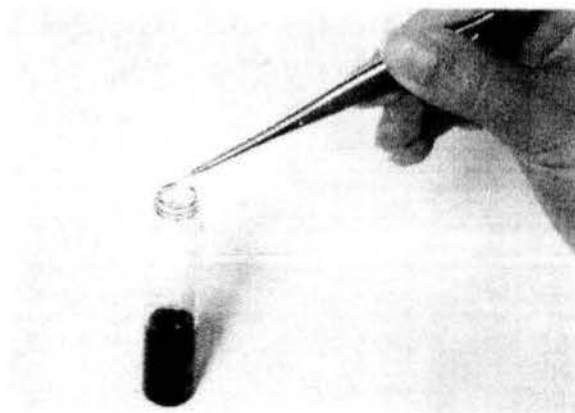
La prueba de *mutans* está disponible como un equipo que incluye una tira plástica (en esta tira uno de sus lados está preparado para se puedan adherir las bacterias), un frasco de cristal con un medio selectivo líquido (Mitis salivarius) y cubos de parafina para masticar y estimular la secreción salival.

Involucra los siguientes pasos:

1.- Kit para la evaluación: Dentocult SM.



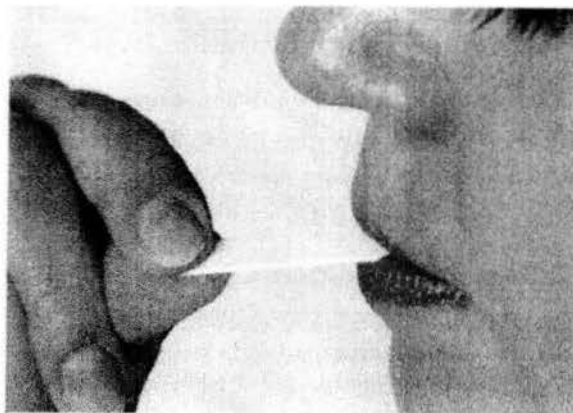
2.- El caldo se activa primero agregando un disco de bacitracina por lo menos 15 minutos antes de su uso.



3.- La persona a ser analizada mastica un pedazo de parafina por unos minutos.



4.- La tira plástica se frota 10 veces por encima de la lengua para contaminarse con saliva.



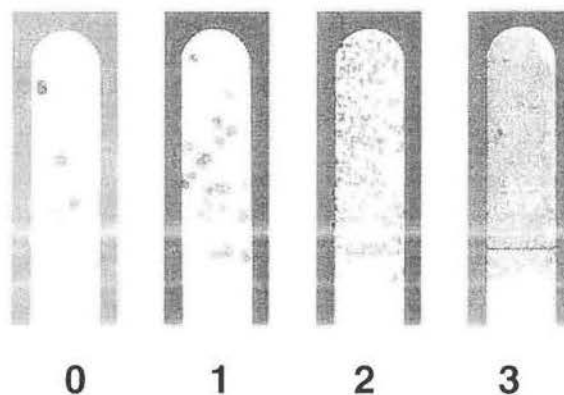
Axelsson P, Diagnosis and risk prediction of dental caries, Germany 2000.

5.- La tira se pasa a través de los labios cerrados para quitar el exceso de saliva. Inmediatamente se introduce la tira contaminada con la saliva del paciente en el tubo con el medio de cultivo.

6.- Se incuba a 37° C durante 48 horas.

7.- La tira se saca del tubo y se seca a temperatura ambiente.

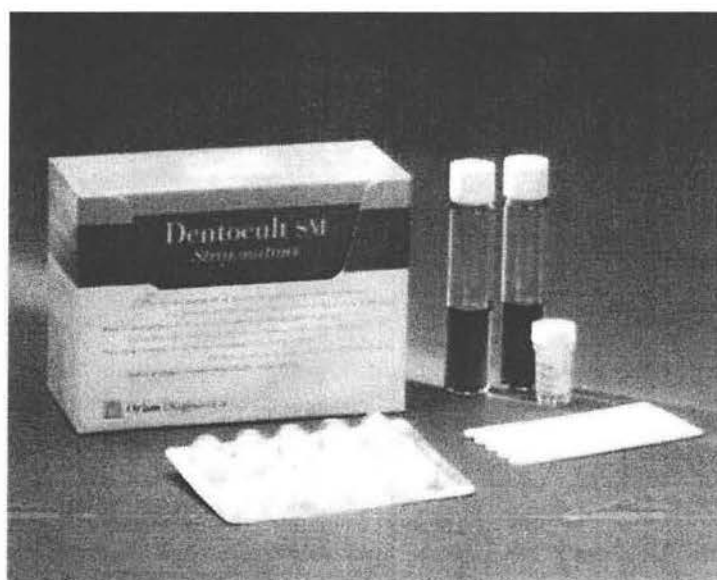
8. El número de colonias adheridas se compara con un mapa proporcionado por el fabricante, el mapa tiene un rango de 0 a 3 que indica el nivel de *Streptococcus mutans*.^{21,9}



RIESGO BAJO- 0 y1

RIESGO MEDIO- 2

RIESGO ALTO- 3



KIT ACTUAL http://www.alleight.com/Products/Orion/Dentocult/Dentocult_LB.htm

METODO POR “CARESCREEN^R”

Es uno de los métodos simplificados para recuento de *Streptococcus mutans*.

Se indica al paciente que mastique parafina y salive dentro del frasco con solución buffer. Se le agrega una pastilla de bacitracina.

Después se toma la tira del frasco con el medio y, se coloca una pastilla de CO₂ dentro del frasco.

La tira con medio se sumerge en un frasco con la solución buffer, saliva y bacitracina. Se escurre la tira sumergida en buffer, saliva y bacitracina, se coloca en el frasco con CO₂ y se deja incubar a 37° C durante 48 horas.

Se efectúan la lectura y la interpretación según densidad de las colonias y se comparan con la muestra de valoración.

Grupo de alto riesgo >500.000 UFC/mL.

Grupo de moderado riesgo entre 250.000 y 500.000 UFC/mL.

Grupo de bajo riesgo <250.000 UFC/mL.¹

4.3. CUANTIFICACIÓN DE LACTOBACILLUS EN SALIVA.

Una prueba, introducida por Hadley por primera vez en 1933, calcula el número de bacterias acidogénicas y acidúricas que se encuentran en la saliva de un paciente al contar el número de colonias que aparecen en las placas de agar de peptona de tomate (pH 5.0) después de una inoculación con una muestra de saliva. El agar LBS (rogosa) es mucho más selectivo; es ácido y tiene alto contenido de acetato y otras sales, así como una tensión superficial baja. Sin embargo la especificidad del agar LBS no es completa, ya que otros organismos fuera de los Lactobacilos pueden crecer ahí. El número total de colonias que se encuentren en este medio refleja la proporción de la flora acidúrica en la saliva. (Menaker, 1986)

Equipo.- El equipo necesario incluye:

- Recipiente recolector de saliva.
- Parafina.
- Dos tubos de 9 ml con solución salina.
- Dos placas de agar rogosa.
- Dos varillas dobladas de vidrio.
- Facilidades para efectuar la incubación, y un contador de Québec y las pipetas correspondientes.

Procedimiento.-

- 1) La saliva se recoge antes del desayuno luego de masticar parafina y ésta se recoge en un recipiente.
- 2) La saliva se agita para mezclarlo.
- 3) Se prepara una dilución de 1:10 tomando con la pipeta 1ml de saliva y se deposita dentro de un tubo de ensayo estéril que contiene de 9ml de solución salina estéril.

- 4) Esta mezcla se agita y se prepara una dilución 1:100, tomando con la pipeta 1ml de la solución 1:10 y se deposita en un tubo de ensayo que contiene 9ml de solución salina estéril;
- 5) La dilución de 1:100 se mezcla en forma vigorosa y 0.4ml de cada dilución se extienden sobre la superficie de la placa de agar con las varillas de vidrios dobladas.
- 6) Se marcan las placas y se incuban a 37 ° C durante 3 a 4 días luego se efectúa el estudio para determinar el número de colonias que crecieron, por medio del contador de Québec.

Bastan pocos minutos para efectuar la prueba, pero es necesario esperar días para obtener los resultados, y además la determinación del número de colonias que crecieron es un proceso muy tedioso. Esta prueba no es sencilla ya que para efectuarla se necesita un equipo relativamente complejo y personal que hayan recibido entrenamiento en bacteriología. El costo es relativamente alto.²¹

El procedimiento usual de cuantificar los lactobacilos en saliva estimulada con parafina puede dar resultados muy variables para el mismo individuo. Por ejemplo, la ingestión de quesos puede elevar el número de colonias de lactobacillus en pacientes que no han tenido una actividad de caries recientes. Esta variabilidad limita la utilidad de esta técnica para la cuantificación de los lactobacilos salivales como una prueba cuantitativa de la actividad de caries por sí sola. Por tanto, se recomienda tomar varias muestras.

La cuenta de lactobacilos en la placa agar es una de las pruebas de actividad de la caries más antiguas. Su correlación con la actividad clínica de la caries se ha demostrado a través de numerosas investigaciones, sobre todo en los estudios comparativos entre pacientes con actividad cariogénica y pacientes sin actividad cariogénica, pero esto a refutado en otras investigaciones. La prueba de los lactobacilos se ha

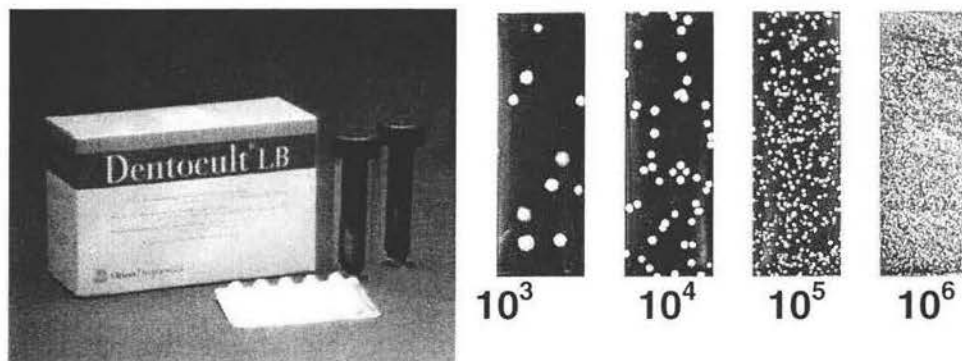
aceptado mundialmente desde hace muchos años y aún se utiliza como una prueba de referencia para las nuevas pruebas de actividad de caries.

21

En la actualidad se cuenta con un método simplificado para el recuento de los Lactobacilos es el:

DENTOCULT –LB.

EQUIPO: Consta de una lengüeta plástico recubierta de un medio selectivo y conectada a un tapón de rosca que cierra un tubo transparente.



http://www.alleight.com/Products/Orion/Dentocult/Dentocult_LB.htm

El procedimiento se describe a continuación:

- Se indica al paciente que mastique la parafina durante un minuto y se recoge la saliva en un vaso de precipitado o probeta.
- Se extrae cuidadosamente la lámina con el medio de cultivo (medio de Rogosa) del tubo y se humecta e impregna de los dos lados con saliva.

- Se extrae cuidadosamente la lámina con el medio de cultivo (medio de Rogosa) del tubo y se humecta e impregna de los dos lados con saliva.
- La lámina se coloca en el tubo, que se rotula, se cierra firmemente y se coloca verticalmente en la estufa y se deja incubar a 37^o C, durante 4 días.
- En la lectura no se efectúa un recuento de densidad de las colonias en la lámina, sino que se compara con un patrón y se clasifica aproximadamente como:

Nº de Lactobacilos Bajo < 1.000 col/mL de saliva.

Intermedio entre 1.000, 10.000 col/mL de saliva.

Alto > o 10.000 col/mL de saliva.

Este método ofrece una correlación relativamente significativa con el recuento convencional del lactobacilo. Debido a que la técnica es sencilla el costo razonable, y los resultados fáciles de interpretar, se han convertido en una prueba práctica de laboratorio^{1, 21}

4.4. PRUEBAS DE SNYDER Y DE ALBAN

La prueba de Snyder mide la rapidez de la formación de ácido cuando una muestra de saliva estimulada se inocula en agar glucosa ajustado a un pH de 4.7 a 5 y con el uso de verde bromocresol como colorante indicador. En forma indirecta esta prueba también es una medida de las bacterias acidogénicas y acidúricas. (Newbrun, 1984). Los microorganismos de la saliva metabolizan la glucosa produciendo ácido, lo que origina el descenso de el pH, que modifica el color verde original del medio, que vira al amarillo.

Equipo:

El equipo incluye recipiente para recolectar saliva, parafina, un tubo de agar glucosa de Snyder que contiene verde bromocresol y está ajustado a un pH de 4.7 a 5, pipetas, e instalaciones para incubación.

Procedimiento:

- ❖ La saliva se recoge antes del desayuno, estimulada al masticar la parafina.
- ❖ Se funde en un tubo de agar de glucosa de Snyder y luego se enfría a 50 ° C.
- ❖ La muestra de saliva se agita vigorosamente durante 3 minutos.
- ❖ Luego se introducen 0.2 ml de saliva con un pipeta dentro del tubo con agar e inmediatamente se mezclan con un movimiento de rotación del tubo.
- ❖ Se permite que se solidifique el agar dentro del tubo y luego se incuba a 37 ° C.
- ❖ El cambio de color del indicador se observa después de 24, 48 y 72 horas de incubación, y se compara con un tubo sin inocular contra una superficie blanca.²¹

La prueba de Snyder es muy sencilla, solamente se requieren de 24 a 48 horas y un equipo simple; y el costo es moderado. Esta prueba llena alguna de las características de la prueba ideal. Snyder y otros científicos han encontrado una correlación alta entre la prueba de producción de ácido de Snyder y el recuento de lactobacilos en un porta objetos. También, Snyder y otros investigadores han encontrado alta

correlación entre la actividad de caries clínica y los resultados positivos en las pruebas de Snyder en estudios comparativos. El mejor acuerdo se obtuvo entre una prueba negativa de Snyder y la ausencia de actividad de caries. Algunos investigadores han refutado ambas aseveraciones.

Ni la prueba de Snyder ni el recuento de lactobacilos pueden predecir con exactitud para un individuo en particular el grado de probabilidad expectativa de aparición de caries.

Se han sugerido varias modificaciones a las pruebas de Snyder a fin de simplificar aún más el método para su empleo en el consultorio dental privado. En una de esas modificaciones, un volumen mucho menor (0.2 ml) de medio de cultivo se inocula con saliva por medio de asa de alambre calibrado. Esto elimina el uso de pipetas y ahorra medio de cultivo y espacio.

El método de Alban utiliza menos agar en el medio de cultivo de manera que no es necesario fundir los tubos y la lectura se efectúa determinando el cambio de pH en función a la profundidad. No se hace ningún intento de cuantificar el inoculado salival, el cual se vierte directamente en el tubo. En otra modificación las superficies bucales de los dientes se limpian con un aplicador con algodón y este se incuba en un medio semifluido de Snyder. Esta modificación tiene la ventaja de que el cultivo se efectúa directamente de la placa.^{6,21}

4.5. PRUEBA DE LA CAPACIDAD AMORTIGUADORA

La saliva tiene una capacidad de neutralizar ácidos o mejor dicho de amortiguar las variaciones de pH. Esta capacidad esta basada en varios sistemas como el sistema de fosfato y el sistema de bicarbonato-ácido carbónico. En la saliva no estimulada, la concentración de fosfato inorgánico es bastante más alta que la concentración del sistema bicarbonato-ácido carbónico. El sistema bicarbonato-ácido carbónico es el más importante en la saliva estimulada debido a su mayor concentración.

Ericsson y Bratthall desarrollaron un método sencillo para medir la capacidad amortiguadora de la saliva en el consultorio dental la tira Dentobuff. El método determina el sistema amortiguador del bicarbonato.

Es importante interpretar la prueba transcurridos exactamente los 5 minutos, ya que el color cambia con el tiempo, y por tanto puede originar resultados equívocos

Existe tendencia a una relación inversa entre la capacidad amortiguadora de la saliva y la actividad de caries. La saliva de aquellos individuos cuyas bocas contienen un número considerable de lesiones cariosas, con frecuencia tienen una capacidad amortiguadora al ácido mucho más baja que la de la saliva de aquellos individuos que se encuentran relativamente libres de caries. Sin embargo, esta prueba no se correlaciona en forma adecuada con la actividad de caries.

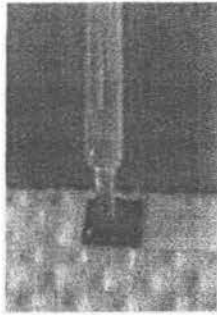
DENTOBUFF® STRIP SYSTEM

Un método simplificado se ha desarrollado bajo el nombre de Dentobuff® Strip System. Una almohadilla para la prueba contiene ácidos secos e indicadores de color. Cuando se agrega una gota de saliva, los ácidos son disueltos produciendo una reacción química que muestra un determinado color según el pH de la saliva.

Materiales necesarios:

- **Dentobuff® Strip System**, el kit incluye
 - tabletas de parafina para masticar y producir la estimulación salival
 - tiras indicadoras de pH
 - un cuadro de colores guía proporcionado por el fabricante
 - pipetas desechables o un gotero.
 - Un tubo
- Cronómetro



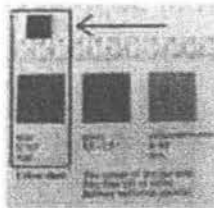


La pipeta se usa para tomar una gota de saliva que anteriormente fue recolectada del paciente y colocarla en la tira de prueba.



Espere cinco minutos y observe el cambio de color con el tiempo transcurrido.

Resultados



Se compara el color de la almohadilla de prueba con el cuadro de colores guía. Este indicador colorido refleja el pH de la tira.²²

Cuadro de colores guía para determinar la capacidad buffer de la saliva:

Dentobuff [®] Strip System			
		Valor pH	Capacidad buffer
	Azul	6.0 o más	Alto
	Verde	4.5 a 5.5	Mediano
	Amarillo	4.0 o menos	Bajo

<http://www.sdpt.net/salivabuffe.htm>

CONCLUSIONES

La caries dental es una de las enfermedades infecciosas mas comunes en el ser humano. Lo que constituye un factor de riesgo para la población infantil. Ya que ésta ocasionará pérdida dental a temprana edad, así como enfermedades pulpares que alteraran el desarrollo dental del paciente pediátrico.

En numerosos estudios, los *S. mutans* y algunas especies de los de los *Lactobacillus*, han sido identificados como bacterias involucradas en la caries dental humana debido a algunas propiedades biológicas como la producción e ácido.

Por tal motivo el recuento de los *S. mutans* y *Lactobacillus*, junto con otros métodos, han sido utilizados para predecir la iniciación de lesiones de caries. Dando lugar al establecimiento de medidas terapéuticas para el tratamiento eficaz y preventivo de los niños.

Además de poder educar al paciente en su higiene oral porque éstos podrán entender sus condiciones bucales visualmente.

La importancia de estos métodos radica en el conocimiento de las características particulares de las bacterias cariogénicas, así como la erradicación de los factores que influyen para que se establezca la caries dental en los niños.

El Cirujano Dentista tiene el compromiso de proporcionar un mejor tratamiento a sus pacientes. Pero sobre todo el de la PREVENCIÓN.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.- Barrancos Money J. *Operatoria dental*. 3ª edición. Editorial Interamericana. 2000.

2.- Seif T. *Cariología Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental*. 1ª edición, Caracas, Venezuela, Editorial Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica, C.A. 1997.

3.- Negroni M. *Microbiología oral*. 1ª edición, México, Editorial Panamericana, 1999.

4.- Koroluk L., Jay N., Komiyama K. *The sensitivity and specificity of a colorimetric microbiological caries activity test (Cariostat) in preschool children*. Pediatric Dentistry 1994; 16 (4):276-281.

5.- Norman O. H. García –Godoy F. *Odontología preventiva primaria*. 1ª edición. Editorial Manual Moderno. México 2001.

6.- Liébana Ureña, J. *Microbiología oral*. 1ª edición. Editorial McGraw-Hill, 1995.

7.- Petti S., Tomassini E., Gatto R., Ottolenghi L., Tarantino L., D'arca S. Su tre differenti metodiche di valutazione dello *Streptococcus mutans* nella saliva. Minerva Stomatol 1994;43: 95-101

8 .- <http://www.sdpt.net/cariesrport.htm>.

9.- Axelsson P, *Diagnosis and risk prediction of dental caries*, Vol.2. 1ª edición. Editorial Quintessence books. Germany 2000.

10.- <http://www.Oei.org.co/sii/entrega4/art10htm>.

11.- Tortora G. J. Tortora. *Principios de Anatomía y Fisiología*. 7ª edición. Editorial Hacourt Brace 1999.

12.- <http://www.glandsaliva/dent.com>

13.- <http://www.icarito.cle-mail:icarito@latercera.cl>

14.- Bentley C. Crawford JJ, Broderius CA. Analytical and physiological variability of salivary microbial counts. J Dent Res 1998; 67(11):1409-13.

15.- Koneman J. *Diagnostico Microbiológico, Texto atlas a color*. 3ª edición. Editorial Panamericana. 1997.

16.- Oho T, Yamashita Y, Shimazaki Y, Kushiya T. *Simple and rapid detection of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus in human saliva by polymerase chain reaction*. Oral Microbiol Immunol; 2000; 15: 258-262.

17.- Igarashi T, Yacamoto A, Goto N, *Direct detection of Streptococcus mutans in human dental plaque by polymerase chain reaction*. Oral Microbiol Immunol; 1996; 5: 294-298.

18.- Slots, J. Contemporary Oral Microbiology and Immunology. 1ª edición. Editorial Mosby Year Book. United States of America 1992.

19.- Liébana Ureña, J. *Microbiología oral*. 1ª edición. Editorial McGraw-Hill, 1995.

20.- Voet J, *Bioquímica*. 1ª edición. Editorial Ediciones Omega. España 1992.

21.- <http://www.cariología.ch.com>

22.- <http://www.sdpt.net/salivabeffe.htm>