



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE ODONTOLOGÍA

**“ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE EL RECuento SALIVAL DE CEPAS DE
LACTOBACILLUS SP. Y EL ÍNDICE COPD EN ADULTOS”**

**MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE CIRUJANO
DENTISTA**

**ALEJANDRO ESTEBAN PÉREZ RYKS
DOCENTE GUÍA: PROF. CARLOS PADILLA
ESPINOZA**

TALCA-CHILE

2004

AGRADECIMIENTOS

- A mis papás Malva y Alejandro, por su amor, apoyo, comprensión y por ser pilar fundamental de lo que soy como persona. Por ser los mejores ejemplos de como se debe luchar para lograr los objetivos trazados en la vida.
- A mi hermano Daniel, que a parte de un excelente hermano, es mi mejor amigo, el que está conmigo en todo momento.
- A mi hijo Matías, que lo es todo para mí, que me insta a luchar para poder entregarle todo lo que él se merece, y que con su amor, me da la fuerza para seguir viviendo.
- A mis tíos Roberto, María Angélica, Ana María, a mis primos Roberto y Carolina; por entregarme su respaldo, cariño y apoyo, y por ser junto a mis padres, hermano y mi hijo una familia pequeña, pero muy valiosa, que se mantiene unida hasta en los momentos más difíciles.
- A Nana, Tita y Abuelita, que aunque no estén conmigo, son tres luceros que brillan en el cielo y me guían desde allí por el buen camino.
- A María Soledad, por su cariño y comprensión, por haber compartido gran parte de estos años, y por haberme levantado cuando más lo necesitaba.
- A mis grandes amigos Cristián, Horacio y Juan Ignacio; por enseñarme que la amistad es mucho más que una linda palabra.
- A Carolina y Andrea, por ser aparte de amigas grandes apoyos en la última etapa de mi vida universitaria.
- A Roberto (Toby), Javier y a toda la HINCHADA por hacer de estos años los más felices de mi vida.

A los Doctores Manuel Gracia, Héctor Monardes, José Castaños y Horacio Mazzarini, por haber encontrado en ellos a parte de excelentes docentes, unos buenos amigos.

“Dedicado a mis padres, hermano, hijo y mi familia; por su apoyo y cariño incondicional en cada etapa de mi vida”

Autorización para la publicación de memorias de Pregrado y tesis de Postgrado

Yo, Alejandro Esteban Pérez Ryks, cédula de identidad N° 13.722.224-8, autor de la memoria o tesis que se señala a continuación, autorizo a la Universidad de Talca para publicar en forma total o parcial, tanto en formato papel y/o electrónico, copias de mi trabajo.

Esta autorización se otorga en el marco de la ley N° 17.336 sobre Propiedad Intelectual, con carácter gratuito y no exclusivo para la Universidad.

Título de la memoria o tesis:	“Estudio de la relación entre el recuento salival de <i>Lactobacillus sp.</i> y el índice COPD en adultos”
Unidad Académica:	Facultad de Ciencias de la Salud
Carrera o Programa:	Escuela de Odontología
Título y/o grado al que se opta	Cirujano Dentista

Firma del Alumno	
RUT:	13.722.224-8

I. INTRODUCCIÓN

La caries se define como una enfermedad infecciosa, crónica, transmisible, que causa la destrucción localizada en los tejidos dentales duros por los ácidos de los depósitos microbianos adheridos a los dientes (J. Liébana 1997).

Esta enfermedad es resultado acumulativo de un proceso dinámico que lleva a una pérdida neta de minerales. Este proceso es producto de continuos periodos de remineralización y desmineralización producida por el metabolismo bacteriano en la superficie dentaria, que en el tiempo lleva a una pérdida de minerales con la consecuente, aunque no siempre, cavitación (I.Urzúa, F.Stanke).

La etiología de la caries es multifactorial (Menaker L.1986, Liébana 1997, Brown P.1997). Según Keyes es producto de la interacción de tres factores fundamentales: Placa Bacteriana (conformada principalmente por los microorganismos acidófilos y acidogénicos del medio), huésped susceptible (representados por las piezas dentarias de los individuos), sustrato cariogénico (que corresponde al aporte de hidratos de carbono en la dieta que consume cada persona). Los tres factores anteriores necesitan interactuar durante un periodo de tiempo suficiente como para permitir la desmineralización de la estructura dentaria (Urzúa/Stanke 1999).

Los *Lactobacillus sp.* son encontrados regularmente en niños de más de dos años de edad. Tienen tres características importantes desde el punto de vista odontológico: son acidogénicos, acidófilos y acidúricos.

Su número aumenta en las caries dentinarias, etapa en la cual el número de *S. mutans* está disminuido.

Por otro lado se sabe que la restricción rigurosa del consumo de carbohidratos, en general, disminuye considerablemente la actividad de caries y el número de *Lactobacillus*

sp. en la saliva. Sin embargo todo parece indicar que los *Lactobacillus sp.* no están esencialmente relacionado con el comienzo de la caries actuando principalmente como “invasores secundarios”, aprovechándose de las condiciones ácidas de la retentividad existente dentro de la lesión de las caries, esto es confirmado por la observación de que los *Lactobacillus sp.* no son detectados en placas bacterianas que recubren lesiones incipientes de caries.

El propósito de este estudio es determinar si el aumento en el número de colonias de *Lactobacillus sp.* en el medio MRS, tiene relación proporcional el índice COPD de pacientes adultos atendidos en la Clínicas Odontológicas de la Universidad de Talca.

II. HIPOTESIS.

Existe asociación entre el número de *Lactobacillus sp.* y el índice COPD.

III. OBJETIVO GENERAL

Determinar *in vivo* la correlación existente entre el N° de cepas de *Lactobacillus sp.* y el índice COPD de pacientes atendidos en el centro de Clínicas Odontológicas de Universidad de Talca.

IV. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener muestras salivales en pacientes adultos de diferentes sexos y edades.
- Cultivar las muestras salivales en placas agar MRS.
- Comparar el recuento microbiológico de *Lactobacillus sp* en pacientes de sexo masculino con pacientes del sexo femenino.
- Analizar el recuento microbiológico de *Lactobacillus sp.* entre diferentes rangos de edades.
- Comparar el índice COPD de pacientes del sexo masculino con pacientes del sexo femenino.
- Determinar la relación existente entre el recuento de *Lactobacillus sp.* y el índice COPD.

V. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Historia de la Caries

La caries es la enfermedad más difundida de la especie humana (Brown, P. 1997).

La evidencia de su existencia en el hombre va disminuyendo a medida que la especie retrocede en el tiempo (Brown, P. 1997).

Sustentados en los hallazgos de pequeñas lesiones superficiales en pueblos prehistóricos, se postula una antigüedad de 500.000 años para la aparición de la caries (Brown, P. 1997; Linossier, A. 1994).

La caries aparece significativamente cuando el hombre comienza a agruparse en comunidades. Junto con el desarrollo de las grandes civilizaciones antiguas (Babilonia, Egipto, Grecia), y los nuevos cambios de hábitos y esplendor cultural, se produce un crecimiento y expansión de la caries a gran velocidad, situación que se mantiene hasta nuestros días (Brown, P. 1997; Nikiforuk, G. 1986). Entre los primeros antecedentes bibliográficos importantes destacan en los tiempos antiguos los proporcionados por la civilización Asiria (1000 AC), los cuales pretenden explicar la caries con una concepción vermicular (Brown, P. 1997).

Importancia de la Caries

La caries dental, en lo que respecta a la amenaza potencial para la vida, tiene una gravedad que excepto en raros casos es limitada. Sin embargo, es preciso considerar ciertas consecuencias importantes, que en ningún caso se deben menospreciar, en una de las enfermedades crónicas que más afligen a la humanidad (Menaker. L. 1986; Liébana, J. 1997).

La caries dental es una enfermedad cara. El tratamiento demanda un gran potencial humano, requiere infraestructura muy costosa y consume tiempo. En nuestro país, los honorarios que pagan los pacientes al sector privado constituyen el mayor costo, sin olvidar el gasto de las instituciones sanitarias y los costos implicados en la formación de los profesionales. Por otra parte, es incalculable el número de horas que se pierden de trabajo, labores del hogar o estudio a consecuencia del tratamiento de la enfermedad (Menaker. L. 1986; Liébana, J. 1997).

La caries dental y sus secuelas también tienen un costo intangible muy importante. Se trata fundamentalmente del dolor, que puede ser de intensidad variable, aunque en realidad, el sufrimiento que produce un dolor de muelas puede ser agudísimo (Menaker. L. 1986; Liébana, J. 1997).

Otra consecuencia importante de la enfermedad son las secuelas funcionales. Los dientes sanos son esenciales para la buena masticación de los alimentos, de la que deriva la correcta deglución y digestión de los mismos. También son importantes en la fonación. Por otra parte, las implicaciones estéticas adquieren en nuestros días mayor relevancia. En los dientes anteriores, la caries puede desfigurar la sonrisa, pero, además, no se debe olvidar que los dientes en general rellenan nuestras mejillas y ayudan a dar forma al rostro. Su pérdida altera la morfología del tercio inferior de la cara, adoptándose la facie típica de los ancianos desdentados (Menaker. L. 1986; Liébana, J. 1997).

Finalmente, la consecuencia más grave de la enfermedad son los efectos sistémicos infecciosos, que a través del torrente sanguíneo puede dar lugar, entre otros aspectos, a una endocarditis bacteriana subaguda (Menaker. L. 1986; Liébana, J. 1997).

Definición de Caries

La definición de caries en la literatura científica ha sido enfocada bajo distintos aspectos. Desde el punto de vista morfológico, es una enfermedad que determina la destrucción de las estructuras del diente. Según los criterios de la epidemiología, es una de las enfermedades más prevalentes que padece el hombre moderno (Liébana, J. 1997). El químico describe el proceso de la caries en términos de la interrelación entre el PH, el flujo mineral y la solubilidad en la superficie del diente y la saliva. El microbiológico se apoya en las reacciones entre las bacterias orales y los tejidos dentarios. El dentista, en su consulta, escribe la enfermedad más en términos de sus aspectos clínicos y de la evolución de la lesión (Menaker. L. 1986).

En concreto, la caries se define como una enfermedad infecciosa, transmisible, polimicrobiana, localizada, que afecta a los tejidos duros del diente (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999), empezando primero con la disolución localizadas de las estructuras inorgánicas en una determinada superficie dental por medio de ácidos de origen bacterianos, hasta llegar, finalmente, a la desintegración de la matriz orgánica (Menaker. L. 1986).

Etiología de la Caries

La caries dental se considera una enfermedad multifactorial (Nikiforuk, G. 1986; Menaker, L. 1986; Brown, P., *et al.* 1991; Liébana, J. 1997; Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Entre los factores que indican en la producción de caries se describen los factores primarios, secundarios y terciarios (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

o Factores Primarios

La caries es una enfermedad que tiene un carácter multifactorial y es comúnmente crónica. Su aparición depende de tres factores primarios que son: 1. El hospedero representado por los dientes, 2. La microbiota de la región o microorganismos, 3. El sustrato o dieta consumida (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Estos tres factores primarios representan la clásica triada de Keyes, al a cual se ha agregado un cuarto factor que es el tiempo. Para que la caries ocurra, estos factores deben no solo estar presentes, sino también interactuar en condiciones óptimas; un hospedero con tejidos susceptibles (dientes), colonizado por una microbiota con potencial cariogénico, consumiendo con frecuencia (tiempo) una dieta rica en sacarosa (FIG. 1). A partir de estas condiciones pueden desarrollarse placas dominadas por bacterias y después de algún tiempo aparecer la lesión de caries (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

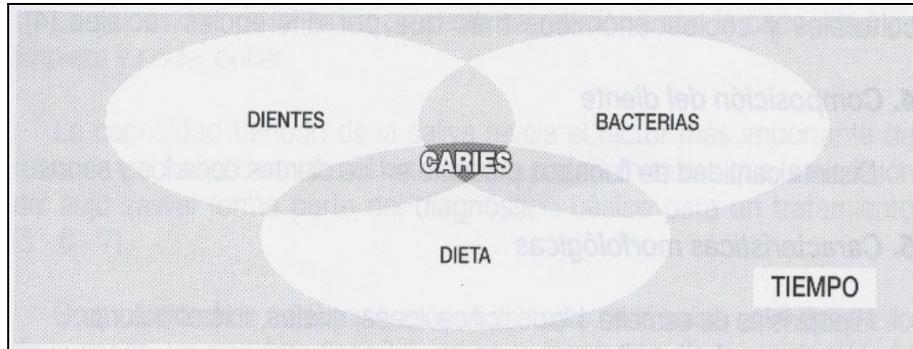


FIGURA N°1. TRIADA DE KEYES MÁS EL FACTOR TIEMPO. (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

○ **Factores Secundarios**

Factores secundarios tales como raza, género, edad, composición del diente, características morfológicas, posición del diente, la saliva, exposición al flúor, la higiene oral, el tipo de dieta, momento y frecuencia de ingesta, enfermedad sistémica y otros, aumentan o disminuyen la resistencia de los dientes, la cariogenicidad del sustrato local (dieta) y el potencial cariogénico de la microbiota, en otras palabras, pueden modular la actividad de caries (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

○ Factores Terciarios

Educación y motivación odontológica.

Este factor que si bien podría formar parte de los factores secundarios debe destacarse en forma separada dado el gran rol que juega en la enfermedad caries (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

De hecho el profesional y el paciente no consiguen ningún éxito en el tratamiento si el paciente no esta suficientemente educado en el cuidado de su salud oral (técnicas de higiene, uso de farmacoterapia, dieta y otros). Acompañado además de una motivación que se traduzca en una aplicación correcta de lo anterior (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

El binomio Profesional-Paciente debe funcionar siempre como tal. El desconocimiento o negligencia por parte del profesional y la ausencia de cooperación por parte del paciente basta para que se establezca la enfermedad. En el desarrollo de la cariología (O. Fejeskov, 1997) se ha propuesto un nuevo esquema que reemplaza a la clásica triada de Keyes. Donde el autor le da importancia a los cofactores como son: clase social, educación, ingresos económicos, conocimientos, actitudes y conductas (FIG.2) (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

- a) Clase social. Normalmente las clases sociales bajas tienen menos preocupación por la salud oral, pero también debemos considerar que las clases sociales media y alta tienen mayor acceso a alimentos con sacarosa, específicamente en el caso de los niños.
- b) Educación. A menor educación menor cuidado por sus piezas dentarias.
- c) Ingresos. A menores ingresos económicos menor acceso a la prevención y tratamiento odontológico.

- d) Conocimiento. El conocimiento esta ligado a la educación pedagógica que se ha recibido, mientras menos educación, menor conocimiento y menor importancia de su salud oral.
- e) Actitudes y conductas. Una mala actitud y conducta, estando presente en forma favorable los otros cuatro cofactores, se traduce en resultados negativos.

Por otro lado, está en el profesional, que insistiendo en actitudes y conductas favorables pueda obviar la deficiencia de las cuatro primeras condiciones (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

La profesión Odontológica debe luchar en la sociedad para que la perspectiva de la salud oral sea entendida por el estado como parte de sus planes sociales (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

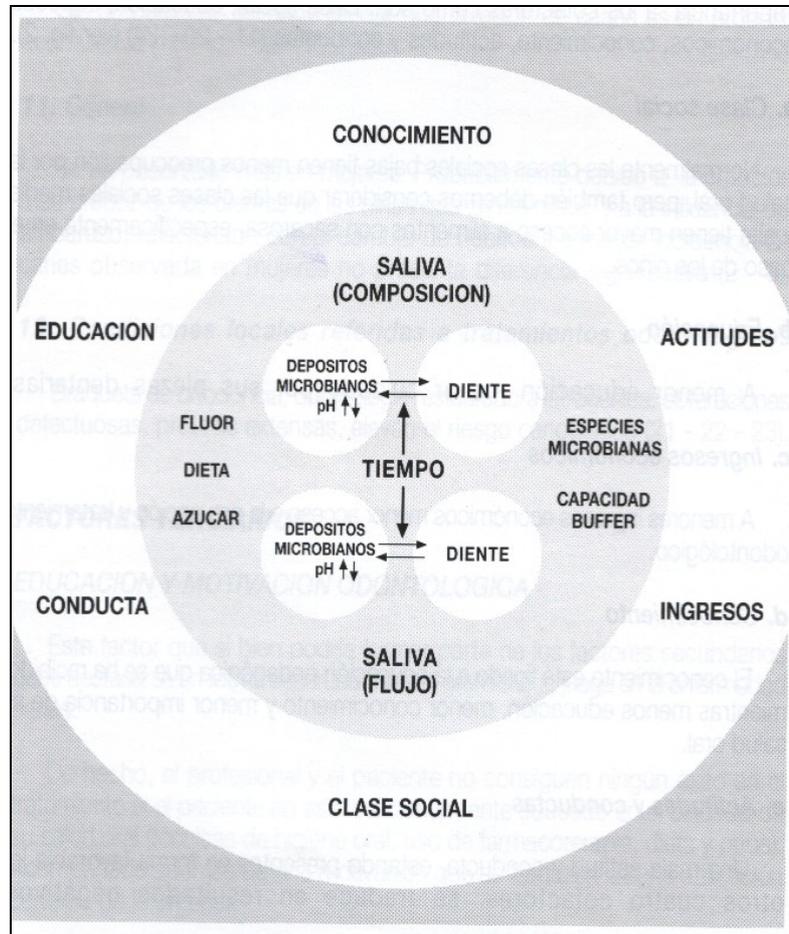


FIGURA N°2. REPRESENTACIÓN ESQUEMATICA DE LA RELACIÓN ENTRE EL FACTOR ETIOLÓGICO, PLACA DENTAL Y DETERMINANTES EN CARIES DENTAL (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Microbiología de la Caries

Desde el nacimiento del individuo la cavidad bucal se encuentra expuesta a numerosos microorganismos presentes en el medio ambiente bucal. Estos microorganismos comienzan a establecerse en la cavidad bucal favorecidos por las condiciones nutritivas y fisiológicas allí presentes (Brown, P., *et al.* 1991).

La microflora bucal que coloniza la superficie dentaria recibe el nombre de Placa Bacteriana (PB) y esta es el resultado de la interacción compleja entre las propiedades microbianas y las características fisicoquímicas de la saliva respecto de la superficie del esmalte dentario. Según la definición de la Organización Mundial de la Salud corresponde a: “ Una entidad bacteriana proliferante, enzimáticamente activa, que se adhiere firmemente a la superficie dentaria y que por su actividad bioquímica metabólica, ha sido propuesta como el agente etiológico principal en el desarrollo de caries y periodonciopatías” (Brown, P., *et al.* 1991).

En presencia, la PB corresponde a una agregación de múltiples bacterias activas de diferentes especies que se encuentran inmersas en una matriz extracelular compuestas de proteínas y polisacáridos (glucanos, fructanos) que son sintetizados por estas bacterias y que favorecen el proceso carioso por constituir reservas energéticas y facilitar la coagregación bacteriana (Brown, P., *et al.* 1991; Seif, T. 1997).

La colonización de la superficie dentaria se produce a partir de la película adquirida, que por definición se describe como la capa orgánica acelular y exenta de bacterias, compuesta principalmente por glucoproteínas salivales que se depositan sobre el esmalte. Es necesario aclarar que la película adquirida no es patógena por sí sola y comprende el primer integumento que se deposita sobre el esmalte absolutamente limpio (Huerta, J. 1990; Brown, P., *et al.* 1991).

La función de la película adquirida es favorecer la posterior agregación de bacterias patógenas en su superficie. Una vez establecida esta película adquirida y en ausencia de una adecuada higiene bucal, comienzan a depositarse en el diente en forma específica las primeras poblaciones bacterianas, lo que se denomina colonización específica. En un primer momento (24 – 48 hrs.) la colonización se efectúa fundamentalmente en base a formas cocáceas de tipo *Streptococcus*. Específicamente destaca la presencia y proliferación de los *Streptococcus mutans* (Brown, P., *et al.* 1991; Liébana, J. 1997). A medida que la placa va creciendo, también se observa un cambio en los tipos morfológicos de las bacterias presentes. Inicialmente la placa está formada por cocos y bacilos Gram (+), y posteriormente se desarrolla una población compleja de cocos y bacilos Gram (+) y (-), formas filamentosas y espirales (Brown, P., *et al.* 1991).

La PB ha sido estudiada por muchos autores y varía de acuerdo a la edad de la placa y de la región dentaria que se analice, es decir, la PB formada luego de algunas horas presenta una composición porcentual diferente a una placa madura de varios días de formación. Así también las placas tomadas de distintas regiones suelen presentar aún bajo un mismo tiempo de formación. Por otra parte, los estudios publicados presentan diferencias debido a las técnicas empleadas, como de un individuo a otro dependiendo de la edad, raza, localización, dieta, además del tipo de cultivo utilizado en el estudio, tiempo de incubación, recuento de colonias; sin embargo, todos han encontrado resultados similares destacando la gran cantidad de formas cocáceas del tipo *Streptococcus* (Brown, P., *et al.* 1991; Whitaker. 1996).

Antes de estos estudios se pensaba que eran los *Lactobacillus sp.* los culpables del comienzo de la caries, por su capacidad de formar ácidos y por el hecho que su número es muy grande en los pacientes con gran incidencia de caries. Los estudios de la microbiota de la placa bacteriana mostraron que los *Lactobacillus sp.* componen una fracción reducida del total de microorganismos presentes en ella, siendo materialmente imposible responsabilizarlos por las lesiones de caries encontradas. Además presentan un muy bajo poder de adherencia a la película salival. Mientras tanto los *S.mutans* con alto poder

cariogénico son numéricamente más expresivos en la placa inmediatamente anterior a la aparición de las caries iniciales manteniendo una relación de 10.000 : 1 en relación a los *Lactobacillus sp.* (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Se sabe que el iniciador de las lesiones de caries es el *S. mutans*, pero una vez instalada la lesión se asocian también a esta bacteria el *Lactobacillus sp.* y el *Actinomyces viscosus* (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Lactobacillus sp.

Es un bacilo Gram (+), pleomórfico, facultativo. Estos bacilos no son móviles, ni elaboran dextrano y su número de colonias aumenta con el consumo de sacarosa. Su capacidad característica es desarrollarse en un medio de cultivo corriente a un PH bajo, con lo cual quedan aislados del resto de la flora microbiana que no puede desarrollarse a ese PH (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Tienen tres características importantes desde el punto de vista Odontológico: son acidogénicos, acidófilos y acidúricos (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Su número aumenta en la caries dentinaria, etapa en la cual el número de *S. mutans* esta disminuído (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Los *Lactobacillus sp.* son encontrados regularmente en niños de más de dos años de edad, y ya la presencia de *Lactobacillus casei* es asociada a la aparición de caries en niños de dos a cinco años (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Los *Lactobacillus sp.* son casi siempre encontrados en las lesiones de caries que presentan cavitación y su número en la saliva mantiene generalmente una correlación positiva con la experiencia de caries, especialmente en relación a grupos de personas. Por otro lado, se sabe que la restricción rigurosa del consumo de carbohidratos, en general, disminuye considerablemente la actividad de caries y el número de *Lactobacillus sp.* en la saliva. Sin embargo, como ya fue señalado anteriormente, todo parece indicar que los *Lactobacillus sp.* no están esencialmente relacionados con el comienzo de la caries actuando principalmente como “invasores secundarios” aprovechándose de las condiciones ácidas y de retentividad existente dentro de la lesión de caries, esto es confirmado por la observación de que los *Lactobacillus sp.* no son detectados en placas bacterianas que recubren lesiones incipientes de caries (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Los *Lactobacillus sp.* han sido fuertemente asociados con el progreso de la lesión y no en su comienzo, el que dependería de la acción anterior de los *Streptococcus* del grupo *mutans* (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

En ciertas circunstancias, la detección de la alta concentración de *Lactobacillus sp.* en la saliva (>100.000/ml) funcionaría como un indicador más del “riesgo de progresión” de las caries iniciales preexistentes. Este indicador, además de otros parámetros, tendría una función importante en la decisión de tratar con restauraciones o no las lesiones incipientes de caries interproximales detectadas radiográficamente y que no permiten una evaluación clínica de presencia o ausencia de cavitación (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

La presencia de un número pequeño de *Lactobacillus sp.* en el esmalte y de alta concentración en la dentina cariada son un indicio más que estos microorganismos están asociados con la fase de desarrollo de la caries más que con su comienzo. Estudios realizados sobre la microbiota asociada con la progresión de la caries incipiente confirman la correlación de los *Lactobacillus sp.* con su desarrollo (Urzúa, I. y Stanke, F. 1999).

Cuantificación de la actividad de la Caries

Antes que la prevalencia y patrón de una enfermedad puedan ser estudiados, es fundamental idear una medida cuantitativa que reflejará exactamente la extensión de la misma en la población. Es relativamente sencillo cuantificar la prevalencia de procesos cariosos, tanto actual como pasado, es decir, la historia de caries de cada paciente. Esto se puede realizar clínicamente a través del índice COPD, descrito por H.Klein y C. E. Palmer en 1937, en el que C representa el número de dientes cariados, P el número de dientes perdidos, y O el número de dientes obturados.

El índice COPD, puede ser utilizado para cuantificar la prevalencia y la incidencia de caries en una población determinada, es decir, la proporción de la población con experiencia de caries pasadas o actual (Nikiforuk, G. 1986).

El índice COPD, corresponde a la suma de las piezas dentarias cariadas, obturadas y perdidas por caries.

El valor del índice de un grupo, corresponde al promedio de los valores individuales de los integrantes del grupo.

Se puede separar por edades, sexos, y cualquier característica de las personas que interese estudiar.

Dada su facilidad de aplicación y la riqueza de datos que proporciona, este índice ha sido ampliamente utilizado. Su empleo, durante muchos años y en diferentes países, ha permitido comparaciones en el ámbito internacional (Loesche, 1986).

VI. MATERIALES Y MÉTODO.

Grupo Participante

Se seleccionaron 209 pacientes de ambos sexos, cuyas edades se ubican en el rango de 15 y 55 años, recientemente ingresados al centro de Clínicas Odontológicas de la Universidad de Talca, que requieren tratamiento dental, en el año 2004, los cuales no habían recibido instrucción de higiene oral previa.

Como parte del protocolo habitual de ingreso, a cada paciente se le realizó un diagnóstico integral, basado en una serie de exámenes principalmente clínico, radiográfico, y microbiológico que se registran en el sistema de Fichas Clínicas del Centro de Clínicas de la Universidad de Talca.

Los datos requeridos para el presente trabajo fueron el recuento microbiológico, el cual fue realizado por los alumnos ayudantes de microbiología, y el índice COPD, el cual se encontraba registrado en las fichas clínicas.

Test Microbiológico

○ Obtención de las muestras de saliva

A cada paciente se le realizó una toma de muestra de saliva con el objeto de realizar el recuento microbiológico de *Lactobacillus sp.*

Previo a tomar las muestras de saliva, a cada paciente se le informó que al momento del examen no deben comer, fumar, ni lavarse o enjuagarse los dientes al menos 2 horas antes de la toma de muestras de saliva.

Para la toma de muestras, a cada paciente se le suministró un trozo de parafina sólida de 1 gr. La que debe ser masticada por 2 minutos para la estimulación de la secreción salival. Luego cada paciente, depositó la saliva acumulada en tubos de ensayo estériles de 18 ml. tapado con un algodón hidrofóbico. La cantidad mínima de saliva requerida debe ser 3 ml. aproximadamente. Las muestras fueron trasladadas a la brevedad al laboratorio de microbiología para ser procesadas en el Laboratorio de Investigación Microbiológica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Talca.

○ Procedimiento de Laboratorio

Las muestras de saliva fueron homogeneizadas previamente a la dilución, con el objeto de distribuir en toda la muestra las bacterias presentes en ella, para que la porción a diluir sea lo más representativa posible. Este procedimiento se realizó con la ayuda de un agitador de tubos (Maxi Mix II tipo 37600 Mixer, Hanel, USA – S.A.) durante 30 segundos. El agua destilada a utilizar en las diluciones fue previamente esterilizada en autoclave a 121°C por 15 minutos.

Con una micropipeta se tomaron 10 µl de la muestra de saliva, los que se adicionaron a 990 µl de agua destilada estéril. Esta solución fue nuevamente homogeneizada por 30 segundos y finalmente se tomaron 100 µl de esa dilución y se adicionaron a 900 µl de agua destilada estéril y nuevamente homogeneizadas dejando la dilución final de la muestra en la proporción de 10^3 . de la dilución final de cada muestra se tomaron 50 µl y se sembraron en placas Petri con medio MRS (Merk, Germany), el cual es un medio selectivo para *Lactobacillus sp.* (ANEXO 5). Estas placas se introducen en jarras de anaerobiosis (jarras bioMérieux), las que contienen sobres que consumen oxígeno (GENbox - bioMérieux), un indicador de anaerobiosis de azul de metileno (Anaer Indicator – bioMérieux), e incubadas a 37°C, a lo menos por 48 horas, en una estufa Pasteur (Memmert 300 GrimbH-Co.KG).

○ **Recuento Microbiológico**

Los crecimientos bacterianos obtenidos a partir de las muestras procesadas por el método cuantitativo fueron contabilizados ocularmente (ANEXO 6).

El recuento total de colonias de *Lactobacillus sp.* Presentes en la placa de Petri se multiplicaron por el factor de dilución (10^3) y fueron expresadas en unidades formadoras de colonias por ml de saliva (ufc/ml).

Clasificación de las muestras

Con el objetivo de facilitar la comparación entre los grupos de pacientes, los recuentos microbiológicos fueron codificados en tres niveles de riesgo:

- Bajo recuento de *Lactobacillus sp.*: menor a 10.000 ufc/ml.
- Moderado recuento de *Lactobacillus sp.*: de 10.000 a 1 millón de ufc/ml.
- Alto recuento de *Lactobacillus sp.*: mayor a 1 millón de ufc/ml.

BAJO	MODERADO	ALTO
< 100.000 ufc/ml	100.000 - < 1.000.000 ufc/ml	= o > 1.000.000 ufc/ml

Determinación del COPD

Para determinar el COPD, se solicitaron las fichas clínicas de los pacientes a los cuales se les tomó las muestras. El COPD, se determina considerando los siguientes parámetros:

- Total de 28 dientes, excluyendo los terceros molares.
- C = número de dientes cariados.
- O = número de dientes obturados.
- P = número de dientes perdidos por caries.
- D = dientes por unidad.

Los datos obtenidos fueron registrados en la siguiente tabla:

<i>Nombre del paciente</i>	<i>Edad</i>	<i>Sexo</i>	<i>N° de placa</i>	<i>N° de Streptococcus Lactobacillus</i>	<i>COPD</i>

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron con el Test t de Student y la prueba de correlación R de Pearson, la cual utiliza un valor p de significancia.

VII. RESULTADOS.

De los 215 pacientes seleccionados, 209 cumplieron con todos los requisitos, entre los cuales había 144 mujeres y 65 hombres, cuyas edades se encontraban entre 15 y 55 años (Tabla 1).

Tabla N° 1: Número y porcentaje del total de los individuos clasificados por rangos etáreos y sexo.

Rangos de Edad	Sexo Femenino		Sexo Masculino		Total Individuos	Porcentaje de Participación en la muestra
	N° Individuos	Proporción con respecto a la muestra	N° Individuos	Proporción con respecto a la muestra		
15 - 19	32	15,3%	26	12,4%	58	27,8%
20 - 24	36	17,2%	9	4,3%	45	21,5%
25 - 29	15	7,2%	9	4,3%	24	11,5%
30 - 34	12	5,7%	5	2,4%	17	8,1%
35 - 39	7	3,3%	3	1,4%	10	4,8%
40 - 44	17	8,1%	7	3,3%	24	11,5%
45 - 49	16	7,7%	2	1,0%	18	8,6%
50 - 54	9	4,3%	4	1,9%	13	6,2%
55 - +	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Totales	144	68,9%	65	31,1	209	100,0%

A todos ellos se le realizaron recuentos microbiológicos, entre los cuales, el 0.48% de los individuos (1 hombre y 0 mujeres) perteneció al grupo clasificado como de “bajo riesgo microbiológico”, el 7.18% (3 hombres y 12 mujeres) perteneció al grupo de “moderado riesgo microbiológico” y el 92.34% (61 hombres y 132 mujeres) se encontró en el grupo de “alto riesgo microbiológico” (Tabla 2).

TABLA 2: Distribución de los individuos estudiados según riesgo cariogénico y sexo.

Recuento	Hombres	%	Mujeres	%	Total	%
Bajo	1	0.48	0	0	1	0.48
Moderado	3	1.44	12	5.74	15	7.18
Alto	61	29.19	132	63.15	193	92.34
Total	65	31.11	144	68.89	209	100

Del total de los 209 individuos de la muestra, 58 de ellos (27.75%), se encuentran en el rango de edad de 15 a 19 años, de ellos el 26.32% tiene un riesgo microbiológico alto, el 1.43% moderado y el 0% bajo (Tabla 3).

Entre los 20 y 24 años de edad, se encuentran 45 individuos (21.53%), de los cuales el 20.1% tiene un riesgo microbiológico alto, el 1.43% un riesgo moderado y un 0% de riesgo bajo (Tabla 3).

Entre los 25 y 29 años de edad, se encuentran 24 individuos (11.48%), de los cuales el 11% tiene un riesgo microbiológico alto y un individuo con un riesgo moderado (Tabla 3).

En el rango de edad de 30 y 34 años, se encuentran 17 individuos (8.13%), de los cuales el 7.66% se encuentra en un riesgo alto y solamente 1 individuo en riesgo moderado (Tabla 3).

Entre los 30 y 34 años, se encuentran 17 individuos (8.13%), de los cuales un 7.66% posee un riesgo alto y solo un individuo se encuentra con un riesgo moderado (Tabla 3).

Entre los 35 y 39 años, se encuentran 10 individuos (4.78%), los cuales todos se encontraban con un riesgo microbiológico alto (Tabla 3).

Entre los 40 y 44 años de edad, se encuentran 24 individuos (11.48%), de los cuales 21 poseen un riesgo microbiológico alto, 2 un riesgo moderado y uno riesgo bajo (Tabla 3).

Entre los 45 y 49 años de edad, se encuentran 18 individuos (8.61%), de estos, el 7.66% tienen un riesgo microbiológico alto, un 0.96 moderado y ninguno con un riesgo bajo (Tabla 3).

Entre los 50 y 54 años de edad, se encuentran 13 individuos (6.22%), de los cuales 4.78% tiene un riesgo microbiológico alto y un 1.43% moderado (Tabla 3).

En el rango de 55 años de edad no se encontró ningún individuo (Tabla 3).

TABLA 3: Número y porcentaje de individuos estudiados según rango de edad y riesgo microbiológico.

Rango Edad	Clasificación UFC/ml							
	Bajo		Moderado		Alto		TOTAL	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
15 - 19	0	0	3	1.43	55	26.32	58	27.75
20 - 24	0	0	3	1.43	42	20.10	45	21.53
25 - 29	0	0	1	0.48	23	11.00	24	11.48
30 - 34	0	0	1	0.48	16	7.66	17	8.13
35 - 39	0	0	0	0	10	4.78	10	4.78
40 - 44	1	0.48	2	0.96	21	10.05	24	11.48
45 - 49	0	0	2	0.96	16	7.66	18	8.61
50 - 54	0	0	3	1.43	10	4.78	13	6.22
55	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	1	0.48	15	7.18	193	92.34	209	100

Los resultados del índice COPD para los 209 individuos de la muestra, arrojaron un promedio de 12.92 ± 4.9 , donde el 68.89% de la muestra corresponde a mujeres que obtuvieron un promedio de COPD de 13.72 ± 4.9 , y los hombres los cuales ocupan el 31.1% del total de individuos arrojaron un promedio de 11.15 ± 4.4 . la tabla 4 muestra los promedios de los COPD según riesgo microbiológico y género.

TABLA 4: Promedio índice COPD según riesgo microbiológico y sexo.

Clasificación UFC/ml	SEXO				Promedio Índice COPD	Total Individuos	Porcentaje de Individuos sobre Clasificación UFC/ml
	Femenino		Masculino				
	Promedio Índice COPD	Nº de Individuos	Promedio Índice COPD	Nº de Individuos			
Bajo	-	0	14,000	1	14,000	1	0,48%
Moderado	16,000	12	15,000	3	15,800	15	7,18%
Alto	13,515	132	10,918	61	12,694	193	92,34%
Total general	13,722	144	11,154	65	12,923	209	100,00%
Porcen. Sexo/muestra		68,90%		31,10%			

Para determinar si existe correlación entre el índice COPD y el número de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml) de *Lactobacillus sp.*; se utilizó la prueba de correlación de Pearson con la cual se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{UFC} = \alpha + \beta \times \text{Índice COPD}$$

H0 = no existe relación entre las variables. ($\beta = 0$).

H1 = existe relación entre las variables. ($\beta \neq 0$).

Si se estima un error del 5% ($\alpha = 0.05\%$), lo que implica un nivel de confianza del 95%, se obtiene que el valor **p** = **0.3928**, lo que indica que no existe diferencia significativa, por lo tanto no existe correlación entre el COPD y las UFC/ml de *Lactobacillus sp.*; aceptando H0.

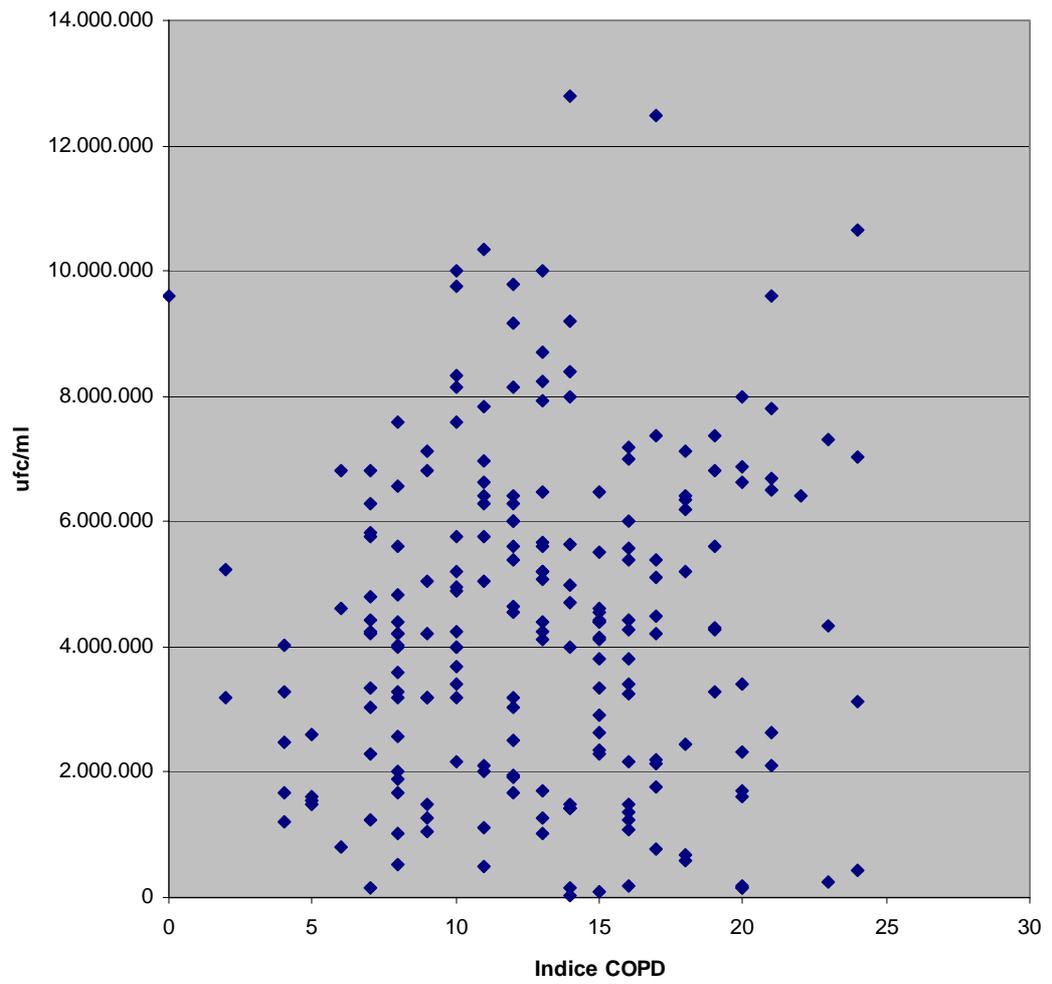


FIGURA: *DISTRIBUCIÓN DEL NÚMERO DE COLONIAS DE LACTOBACILLUS SP. SEGÚN ÍNDICE COPD*

VIII. DISCUSIÓN

Se sabe que el iniciador de las lesiones de caries es el *S. mutans*, pero una vez instalada la lesión se asocia fuertemente a esta bacteria el *Lactobacillus sp.* (Urzúa, I y Stanke, F. 1999).

El número de *Lactobacillus sp.* aumenta en la caries dentinaria, etapa en la cual el número de *S. mutans* esta disminuído. (Urzúa, I y Stanke, F. 1999).

Los *Lactobacillus sp.* son casi siempre encontrados en las lesiones de caries que presentan cavitación y su número en la saliva mantiene generalmente una correlación positiva con la experiencia de caries, especialmente en relación a grupos de personas. Por lo tanto, todo parece indicar que los *Lactobacillus sp.* no estan relacionados con el comienzo de las caries, actuando principalmente como “invasores secundarios”, aprovechandose de las condiciones ácidas y la retentividad existente dentro de la lesión de caries. (Urzúa, I y Stanke, F. 1999).

Los recuentos de *Lactobacillus sp.* junto con los de *S.mutans*, han sido utilizados para identificar riesgo microbiológico de caries, clasificándose en bajo, moderado y alto riesgo, dependiendo de mayor o menor número de colonias de *Lactobacillus sp.* en la saliva. Esto se puede determinar mediante el recuento microbiológico utilizando el medio MRS, el cual es un medio de cultivo altamente selectivo para el *Lactobacillus sp.*. Para el presente estudio se utilizó este medio (MRS), ya que posee varias ventajas, como su bajo costo, la posibilidad de ser aplicado masivamente y su fácil preparación. De todas maneras, el medio MRS posee un error intrínseco dado por el tipo de recuento macroscópico de las colonias desarrolladas en las placas, por lo que es recomendable que sea realizado por un mismo operador, al igual que la toma de muestra de saliva y el procesamiento de las muestras.

En el presente estudio se observó que el total de los pacientes de la muestra, el 68.9% pertenece al género femenino, y el 31.1% pertenece al género masculino, lo que demuestra que existe mayor preocupación por la salud oral por parte de las mujeres, dato que coincide con la mayoría de los estudios realizados en la Universidad de Talca.

El porcentaje de pacientes considerado como de “bajo riesgo” correspondieron a un 0.48%, los de “moderado riesgo” correspondieron a un 7.18%, y los de “alto riesgo” correspondieron a un 92.34%, lo que refleja claramente la tendencia de la población a formar parte del “riesgo alto”.

Dada la fácil aplicación y riqueza de datos que nos proporciona, para este estudio, se utilizó el índice COPD descrito por Palmer y Klein en 1937, el cual a sido ampliamente utilizado debido a que nos permite cuantificar la prevalencia de los procesos cariosos, tanto actuales como pasados, es decir, la historia de caries de cada paciente (Nikiforuk, 1986; Loesche, 1986). Para este estudio, el índice COPD se determinó a través del odontograma de las fichas clínicas de los pacientes de las Clínicas Odontológicas de la Universidad de Talca, considerando que existió uniformidad de criterios para corregir las fichas por parte de los docentes de dicho establecimiento.

El COPD promedio del total de la muestra fue de 12.92, lo cual consideraría a nuestros individuos en estudio como de alto riesgo según la OMS (Brown 1991).

En este estudio fue necesario determinar la correlación entre el número de unidades formadoras de colonias de *Lactobacillus sp.* y el índice COPD, para ver si el recuento bacteriológico por sí solo nos permite predecir el riesgo cariogénico de un paciente. Al aplicar la prueba de correlación de Pearson, encontramos que nos da un valor p de 0.3928, lo cual nos indica que no existe correlación entre el número de unidades formadoras de colonias de *Lactobacillus sp.* total y el COPD.

Estos datos demuestran la importancia de estudiar y predecir el nivel de riesgo cariogénico con un enfoque multifactorial. Por lo tanto, el examen microbiológico por si solo no es capaz de predecir el riesgo cariogénico de un paciente, solo es una herramienta que nos permite elaborar medidas preventivas individuales para cada paciente.

IX. CONCLUSIONES

Basándose en los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede concluir que:

No existe diferencia significativa entre individuos de diferente sexo en relación al riesgo microbiológico.

Existe un mayor promedio en el índice COPD en individuos del sexo femenino que del sexo masculino.

No es posible establecer correlación entre el recuento de colonias de *Lactobacillus sp.* y el índice COPD.

Se debe considerar el examen microbiológico solo como una herramienta para elaborar medidas preventivas individuales para cada paciente.

X. RESUMEN

La caries es la enfermedad más difundida de la especie humana. La historia de caries de cada paciente puede extrapolarse clínicamente del índice COPD. El *Lactobacillus sp.* es considerado como el patógeno secundario en la caries dental. Hoy en día, existen muchos medios de cultivo para determinar la concentración de *Lactobacillus sp.* en la saliva. El medio MRS es altamente selectivo para *Lactobacillus sp.* el cual nos permite cuantificar estas cepas.

El propósito de este estudio fue determinar si un aumento de los recuentos salivales (ufc/ml.) de *Lactobacillus sp.*, se asocian a índices elevados de COPD en pacientes adultos.

El estudio se realizó con 209 pacientes entre 15 – 55 años de edad. A los cuales se les realizó un recuento microbiológico de *Lactobacillus sp.* en medio MRS. A cada paciente se le determinó su índice COPD a través del odontograma registrado en las fichas clínicas de las Clínicas de la Universidad de Talca. Los datos se analizaron a través del test T de Student y la prueba de correlación R de Pearson con un valor p de significancia de 0.05. Se demostró que no existe correlación entre el número de colonias de *Lactobacillus sp.* y el COPD (p de 0.3928). De los resultados se concluye que el recuento de *Lactobacillus sp.* no tiene relación directa con el índice COPD, por lo que este recuento se debiera tomar sólo como un parámetro más para este índice.

Palabras Claves: Microbiología, Odontología - Microbiología, *Lactobacillus sp.* - Odontología, Índice COPD

VII. BIBLIOGRAFÍA

Araneda E., 2002. Memoria para optar al título de cirujano dentista. **“Relación entre la formación de glicocálix en cepas de *Streptococcus mutans* y el COPD”**.

Barrancos, M. 1999 y cols, Operatoria Dental. **”Prevención en Cariología”**, tercera edición , editorial salud panamericana.

Brown P, Nicolini S., Onetto J.E. **“Caries”**. Universidad de Valparaiso 1991. Journal.

Bullen M. 2004 **“Diagnóstico Microbiológico en Odontología”** Facultad de Odontología. Universidad de Panama.

Contardo S. Memoria para optar a título de cirujano dentista. 2002. **“Comparación de recuentos salivales de *S. mutans* en pacientes con distinto grado de severidad de E.P.”**

Fejerskov, O 1997. **“Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease”**. Community dentistry and oral epidemiology, 25: 5-12.

Jenkinson H. 2002. **“Big events in a small world: the changing face of Oral Microbiology”**. Journal Dental Research; 81(2): 84-88.

Johnson , N. W. 1991, **“Dental caries”**, vol 1 , Cambridge University Press.

Larmas M. 1992. **“Saliva and caries: Diagnostic tests normal dental practice”**, Int Dent 42:199-208.

Liébana Ureña J. “**Microbiología oral**”. México, DF. Editorial Interamericana McGraw-Hill. 1 edición. 1997.

Linossier A.1994. “***Streptococcus mutans* y caries dental**”. Odontología Chilena; 42:113-119.

Menaker L.1986. “**Bases biológicas de la caries dental**”. Salvat. 1 edición. Cap. II III y IV.

Motzfeld R.; Linossier A. 1994. “**Prevalencia de caries y de *Streptococcus mutans* en alumnos de 1° año Facultad de Odontología, Universidad de Chile**”.

Mouton C. 1995. “**Bacteriología bucodental**”. Editorial Masson. 1° Edición.

Nikiforuk G. “**Caries dental**”. Buenos Aires, Argentina. Editorial Mundi S.A.I.C y F. 1986

Thylstrup, a. y cols. 1988, “**Caries**”, Doyma Barcelona 338 p.

Urzúa I , Stanke F 1999. “**Nuevas estrategias en cariología**” primera edición. Universidad de Chile.

Wittaker C., Klier C., and Kolenbrander P. 1996. “**Mechanism of adhesion by oral bacteria**”. Annual Reviews Microbiology; 50: 513-552.

ANEXO 1

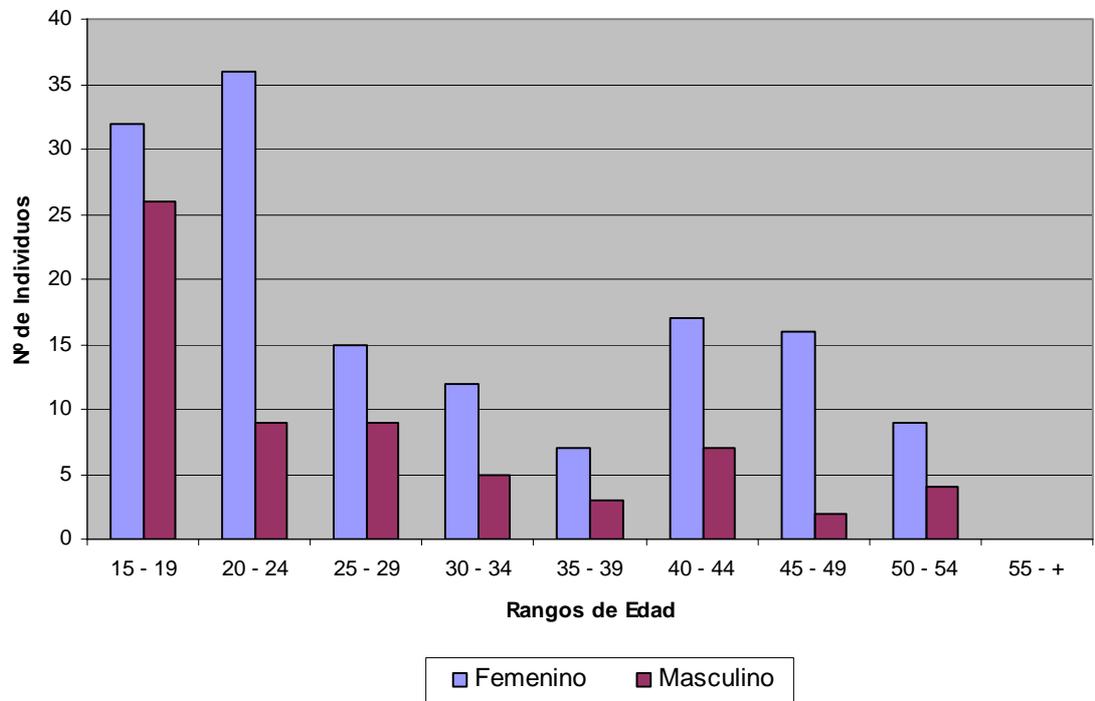


Fig. 1 : Distribución del número total de los individuos estudiados según rango de edad y sexo.

ANEXO 2

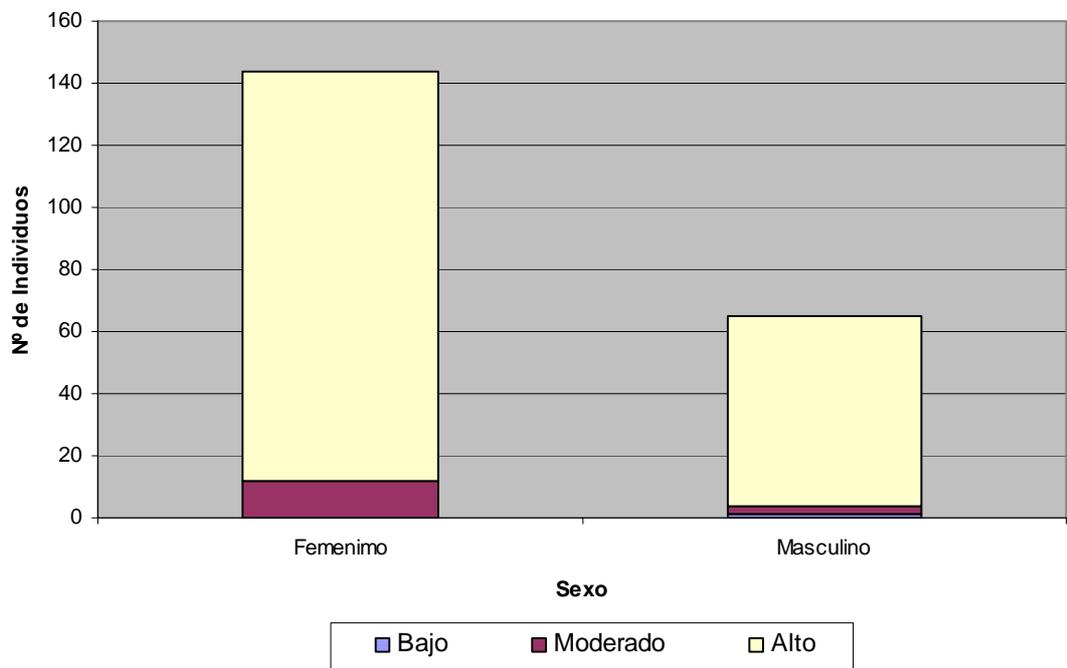


Fig. 2 : Distribución de los individuos estudiados según riesgo microbiológico y sexo

ANEXO 3

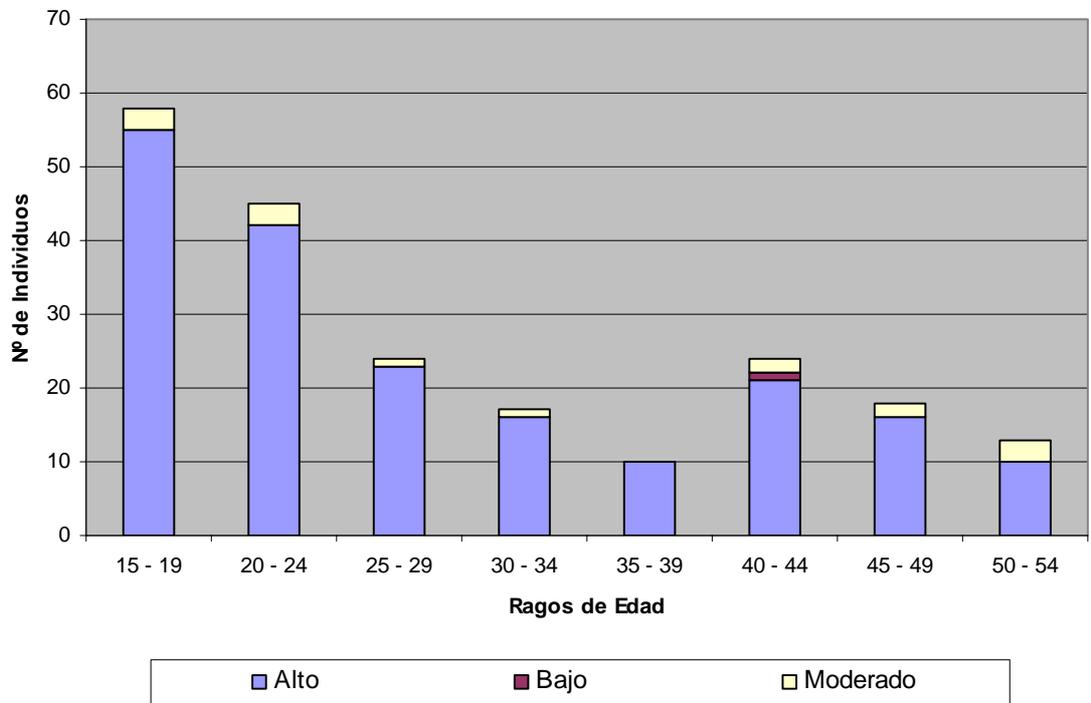


Fig. 3 : Distribución de los individuos estudiados según riesgo microbiológico y rangos de edad.

ANEXO 4

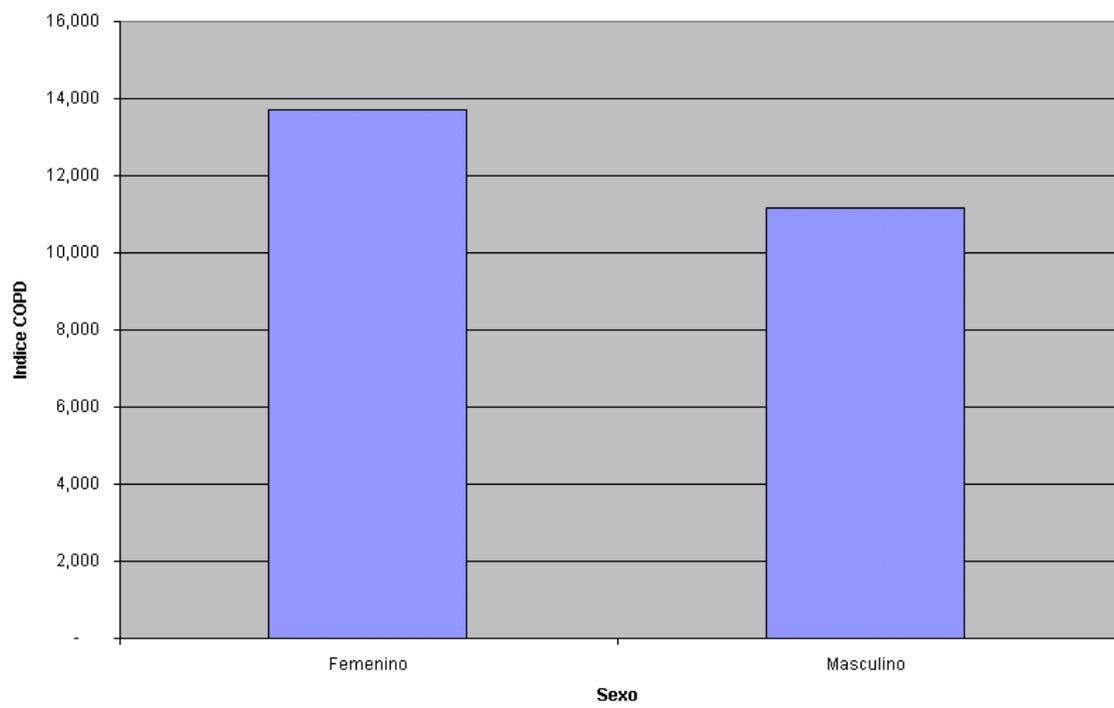


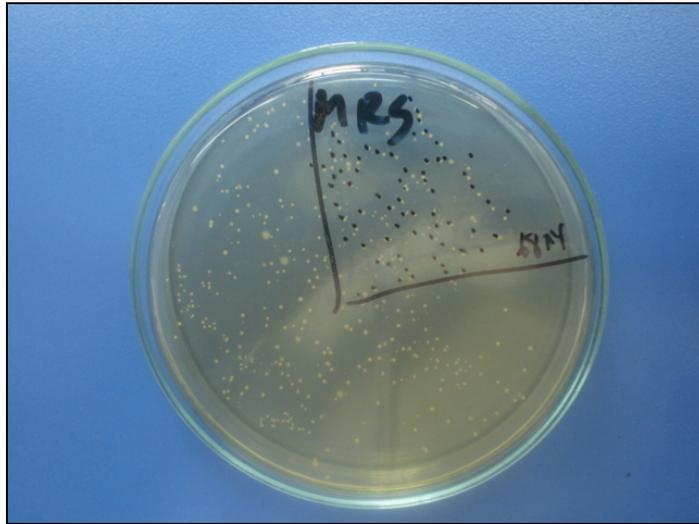
Fig.4 : Distribución de los individuos estudiados según promedio índice COPD y sexo.

ANEXO 5



La fotografía muestra el procedimiento de sembrado de la dilución de la muestra de saliva en las placas de petri con el medio selectivo MRS para *Lactobacillus sp.*.

ANEXO 6



La fotografía muestra la placa de petri con el medio MRS sembrada con la muestra de saliva luego de 48 horas con el recuento de número de cepas de *Lactobacillus sp.*

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	3
III. OBJETIVO GENERAL	4
IV. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
V. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
Historia de la Caries	6
Importancia de la Caries	7
Definición de Caries	8
Etiología de la Caries	9
Microbiología de la Caries	14
<i>Lactobacillus Sp.</i>	17
Cuantificación de la actividad de la Caries	19
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	
Grupo Participante	20
Test Microbiológico	21
Clasificación de las muestras	23
Determinación del COPD	24
Análisis estadístico	25

VII. RESULTADOS	26
VIII. DISCUSIÓN	32
IX. CONCLUSIONES	35
X. RESUMEN	36
ANEXO 1	37
ANEXO 2	38
ANEXO 3	39
ANEXO 4	40
ANEXO 5	41
ANEXO 6	42
XI. BIBLIOGRAFÍA	43