

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

POSTGRADO DE ODONTOLOGÍA INFANTIL

**FACTORES DE INHIBICIÓN DE LA ADHERENCIA
BACTERIANA EN EL PROCESO DE FORMACIÓN DE
LA PLACA DENTAL SUPRAGINGIVAL**

Trabajo especial presentado ante la ilustre
Universidad Central de Venezuela por la
Odontóloga Karelys T. Martínez A., para
optar al título de Especialista en
Odontología Infantil.

Caracas, mayo de 2004

Aprobado en nombre de la
Universidad Central de Venezuela
por el siguiente jurado examinador:

Prof. Marianella Perrone C.

C.I.: 4.355.708

FIRMA

Prof. Gustavo Pérez Gutiérrez.

C.I.: 4.504.485

FIRMA

Prof. Elio Dinatale Papa

C.I.: 5.225.033

FIRMA

Observaciones: _____

Caracas, mayo de 2004

DEDICATORIA

A Papi y Mami ...

Cualquier cosa que yo consiga..., ustedes me dieron el valor para empezar.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme vida...

Desde lo más profundo de mi ser, agradezco inmensamente a la Flia. Dao Martínez, junto al Abuelo, Tata y Rosita: sin palabras... Que Dios bendiga ese maravilloso hogar.

A mis padres, hermanos, cuñadas y sobrinos, gracias por apoyarme en esta meta que es también de ustedes.

A tí Gilbert, por estar siempre a mi lado; gracias por tus traducciones.

A los Docentes del Postgrado de Odontología Infantil, por sus enseñanzas y por el compartir conocimientos y experiencias.

A la casa que vence las sombras, por servirme de refugio para mi enriquecimiento profesional y espiritual.

A todos mis pacientes, gracias por regalarme siempre su sonrisa de despedida.

A mi madrina Mildred Longobardi, siempre serás un ejemplo a seguir.

A mi tutora Prof. Marianella Perrone, por ser guía en este último paso. Fue un honor trabajar con usted.

Y por último, pero no menos importante, gracias a Liliana, Oscar, Marlene, Anyuska, Jenny, Jessika y Dubraska, por haberme permitido la oportunidad de conocerlos y disfrutar como hermanos esos años que fueron plenos de felicidad, risas, llanto, fiestas, pero sobre todo, llenos de unión.

LISTA DE CONTENIDOS

	<u>Página</u>
Resumen	
Introducción	
1. Placa dental. Generalidades	2
2. Placa dental. Concepto	4
3. Clasificación	10
3.1. Supragingivales o coroneales	11
3.2. Subgingival	12
3.3. Radiculares	13
4. Composición de la placa dental	14
5. Composición microbiana de la placa dental	15
6. Placa dental y biofilm (biopelícula) microbiano	17
7. Formación de la placa dental	20
8. Formación de la película adquirida	24
9. Transporte microbiano a la superficie del hospedero y amplio rango de fuerzas físico-químicas	29
10. Transporte de las bacterias hasta la película adquirida	33
11. Adhesión reversible a la película adquirida	34
12. Colonización primaria	35
13. Adherencia	42
14. Mecanismos de adherencia	45
14.1. Uniones lectina-carbohidrato	46
14.2. Uniones proteína-proteína	47
14.3. Uniones mediadas por glucanos	48
14.4. Uniones mediadas por ácidos lipoteicoicos	51
14.5. Adhesión a células epiteliales	53
14.6. Unión física por atrapamiento	54
15. Factores de adhesión, agregación y coagregación	55

16. Control microbiológico de las placas dentales	60
16.1. Antimicrobianos	60
16.1.1. Condiciones del fármaco	60
16.1.2. Formas de aplicación	61
16.1.3. Principales fármacos utilizables	61
16.1.3.1. Antibióticos	61
16.1.3.2. Antisépticos: bisguanidas	62
16.1.3.3. Otros antisépticos	64
16.1.3.4. Fluoruros	66
16.1.3.5. Activadores de la lactoperoxidasa	67
16.1.3.6. Bacteriocinas	68
16.1.3.7. Fosfatos	68
16.1.3.8. Otros productos	68
16.2. Bloqueantes de la adhesión	69
16.3. Eliminación mecánica de la placa	71
17. Descripción de artículos	72
18. Colonización secundaria y terciaria	121
19. Placa madura	125
20. Discusión	127
21. Conclusiones	132
22. Referencias bibliográficas	133

LISTA DE GRÁFICOS

Página

-	<u>Figura 1:</u> Representación esquemática de la -----	28
	formación de la película adquirida	
-	<u>Figura 2:</u> Curva del mínimo secundario -----	31
-	<u>Figura 3:</u> Interacción de moléculas lipófilas -----	43
	y adhesivas hidrófobas	
-	<u>Figura 4:</u> Alejamiento de zonas electronegativas -----	43
	por organelos, y acortamiento del espacio que separa superficies	
-	<u>Figura 5:</u> Complementariedad entre superficies -----	44
-	<u>Figura 6:</u> Aproximación directa por cationes, e -----	44
	indirecta por glucoproteínas	
-	<u>Figura 7:</u> (a) Enlaces covalentes (dos átomos con -----	45
	electrones desapareados, • , en su capa externa forman enlaces compartiendo pares de electrones	
-	<u>Figura 8:</u> Coagregación (proteína-proteína y lectina- --	47
	carbohidrato)	
-	<u>Figura 9:</u> Uniones mediadas por glucanos -----	50
-	<u>Figura 10:</u> Uniones mediadas por ácidos lipoteicoicos	53

RESUMEN

La placa dental es una compleja comunidad microbiana que se encuentra en la superficie dentaria, embebida en una matriz de polímeros de origen bacteriano y salival. Puede ser clasificada en términos de su localización como supragingival, subgingival y radicular; de su potencial patógeno como cariogénica o periodontopatogénica; y de sus propiedades, como adherente y no adherente. La formación de la placa dental está dividida dentro de importantes etapas, que incluyen: formación de la película adquirida, transporte de microorganismos a dicha película, coagregación de bacterias para la adhesión celular y crecimiento y reproducción de los microorganismos adheridos a la película. Se han realizado importantes estudios para encontrar la manera de prevenir y eliminar la placa dental. Los distintos métodos que pueden utilizarse se clasifican en tres grupos: antimicrobianos, bloqueantes de la adhesión y eliminación mecánica. Entre dichos estudios se describió el uso de: eritritol, xilitol, fluoruro y cloruro de amina, fluoruro de sodio, clorhexidina, triclosán, extracto de té oolong, entre otros, estas sustancias intervienen eficazmente en el bloqueo de la adhesión bacterial.

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

POSTGRADO DE ODONTOLOGÍA INFANTIL

**FACTORES DE INHIBICIÓN DE LA ADHERENCIA
BACTERIANA EN EL PROCESO DE FORMACIÓN DE
LA PLACA DENTAL SUPRAGINGIVAL**

Autor: _____

Od. Karelys Martínez A.

Tutor: _____

Prof. Marianella Perrone.

Caracas, mayo de 2004

INTRODUCCIÓN

La caries dental y la enfermedad periodontal son entidades infecciosas, transmisibles e inducidas ambas por la placa dental, que difieren en el tipo de microorganismos que las produce. Como la placa dental es considerada un prerrequisito indispensable para la aparición de ambas entidades, en este trabajo se revisó el proceso de su formación, así como, los principales mecanismos de adherencia de los cuales disponen las bacterias para unirse a la superficie dentaria.

Se establece como objetivo principal, el análisis de numerosos estudios de investigación orientados hacia la inhibición o bloqueo de la adherencia bacteriana en el proceso de formación de la placa dental supragingival. Como la adherencia es un factor esencial para la colonización, tanto de especies patógenas, como residentes, aquellos intentos que puedan exitosamente interferir con este proceso, podrían tener implicaciones importantes desde el punto de vista terapéutico.

1. PLACA DENTAL. GENERALIDADES

En la superficie dentaria se acumulan muchas clases de depósitos. Se clasifican en blandos y duros; firmemente unidos, adhesivos o poco adhesivos; coloreados o incoloros; transparentes u opacos. En el pasado se los designaba mediante una variedad de nombres y muchas veces se aplicaba la misma denominación a diferentes depósitos. Más recientemente, hubo un interés creciente por identificar características diferenciales de los depósitos y su potencial de producir enfermedades.¹

En la cavidad bucal, los dientes aportan superficies duras que permiten el desarrollo de extensos depósitos bacterianos. La acumulación y el metabolismo de las bacterias sobre las superficies bucales están considerados como la causa primaria de caries dental, gingivitis, periodontitis, infecciones periimplantares y estomatitis.²

La caries dental es una enfermedad infecciosa con una etiología multifactorial que incluye la susceptibilidad del hospedero, la dieta y los microorganismos cariogénicos. La cavidad bucal contiene una

de las más concentradas y variadas poblaciones microbianas del organismo. Particularmente, un gran número de microorganismos son encontrados en el dorso de la lengua, alrededor del surco gingival y en la superficie dentaria. A nivel del diente las acumulaciones blandas, no calcificadas de bacterias y sus productos son referidas como placa dental.³

Marsh (1999), establece que la caries dental es “la destrucción localizada de los tejidos del diente debida a los ácidos (especialmente el ácido láctico), producidos por la fermentación de los carbohidratos de la dieta por las bacterias de la placa dental. En fases posteriores de la enfermedad, también puede producirse una degradación proteolítica de la matriz de colágeno de los tejidos más profundos, por ejemplo, la dentina”.⁴

García y col., (Citado por J. Liébana, 2002)⁵, afirman que la definición más completa de la caries es aquella que la considera como una “enfermedad infecciosa, crónica, transmisible, muy prevalente en el ser humano, que se caracteriza por la destrucción localizada de los tejidos duros dentales, por la acción de los ácidos producidos por los depósitos microbianos adheridos a los dientes”.⁵

2. PLACA DENTAL. CONCEPTO

Schroeder, H. E., (Citado por Glickman, 1974)¹, realizó una revisión histórica de la terminología utilizada para los depósitos bucales blandos, la cual se expresa de la siguiente manera:

- 1897 J. C. Williams: Una masa que se percibe como gruesa de microorganismos productores de ácidos.
- 1897 G. V. Black: Capas gelatinosas de microorganismos.
- 1898 G. V. Black: Placa microbiana gelatinosa.
- 1898 J. C. Williams: Placas microbianas.
- 1899 G. V. Black: Placa microbiana gelatinosa –capas gelatinosas transparentes producidas por microorganismos.
- 1902 W. D. Miller: Placa bacteriana.
- 1941 W. Wild: Placa—se adhiere a la superficie en los espacios habitualmente no limpiados de la dentadura y se compone de restos de alimentos triturados (carbohidratos, proteínas, grasas), saliva (mucina, células epiteliales descamadas) y diversas bacterias.
- 1953 R. M. Stephan: Placa –la suma de todo material blando,

exógeno que se adhiere a la superficie dentaria.

- 1961 Organización Mundial de la Salud: Placa –principalmente microorganismos; materia alba-residuos bucales, microorganismos, células epiteliales, sanguíneas, y pocos residuos de alimentos.
- 1963 C. Dawes, G. N. Jenkins, C. H. Tongue : Placa dentaria – todos los depósitos blandos, con exclusión de residuos de alimentos.
- 1969 R. S. Schwartz, M. Massler: Clasifican los depósitos blandos como sigue:
 1. Película adquirida –película fina acelular.
 2. Placa dentaria –depósito transparente organizado, que básicamente se compone de bacterias y sus productos.
 3. Materia alba –depósito blando, blanquecino, sin arquitectura específica, que puede ser eliminado rociando agua.
 4. Residuos de alimentos –alimentos retenidos, que se eliminan con la saliva y la acción de los músculos de la boca.

La placa dentaria es un depósito blando, amorfo, granular que se acumula sobre las superficies, restauraciones y cálculos

dentarios. Se adhiere firmemente a la superficie subyacente, de la cual se desprende sólo mediante la limpieza mecánica. Los enjuagatorios o chorros de agua no la quitarán del todo. En pequeñas cantidades la placa no es visible salvo que se manche con pigmentos de la cavidad bucal, o sea teñida por soluciones reveladoras o comprimidos. A medida que se acumula, se convierte en una masa globular visible con pequeñas superficies nodulares, cuyo color varía del gris y gris amarillento al amarillo.¹

Slots y Taubman en 1992 (Citado por Seif T., 1997)³, señalan que la placa dental es una acumulación de bacterias asociada con la superficie dentaria, que no puede ser fácilmente removida por enjuagues o un simple chorro de agua.³

Un concepto más dinámico de lo que es la placa dental es el propuesto por Marsh y Martin, quienes señalan que la placa dental es un término general para la compleja comunidad microbiana que se encuentra en la superficie dentaria, embebida en una matriz de polímeros de origen bacteriano y salival. La placa que se calcifica es conocida como cálculo o tártaro. La presencia de placa en la boca puede ser demostrada fácilmente

mediante enjuagues con una solución, tal como la eritrosina. La placa es encontrada en forma natural en la superficie bucal, y forma parte de la defensa del hospedero por exclusión exógena de las especies (generalmente patogénicas). En ocasiones, sin embargo, la placa puede acumularse más allá de los niveles compatibles con la salud bucal, y esto puede llevar al desarrollo de una microflora que predispone al establecimiento de enfermedades.⁶

La placa dental es una masa blanda y adherente de colonias bacterianas que se acumula sobre la superficie de los dientes, la encía y otras superficies bucales (prótesis, etc.), cuando no se practican métodos de higiene bucal adecuados.⁷

Estudios de distintos ecosistemas han mostrado que la vasta mayoría de microorganismos existen en forma natural asociada con una superficie. El término “biofilm” es usado para describir comunidades de microorganismos íntimamente relacionados a una superficie.⁶

El biofilm o la biopelícula de placa dental, según definición de

la Organización Mundial de la Salud, corresponde a una entidad bacteriana proliferante con actividad enzimática que se adhiere firmemente a las superficies dentarias, y por su actividad bioquímica y metabólica, ha sido propuesta como el principal agente etiológico en el desarrollo de la caries dental.⁸

G. V. Black (Citado por W. G. Shafer y col., 1988)⁹, consideró a la placa dental como muy importante en el proceso carioso y, en 1899, lo describió de este modo: “La placa gelatinosa del hongo carioso es una película delgada, transparente, que por lo regular escapa a la observación, la cual sólo se revela mediante una búsqueda cuidadosa. No es la masa gruesa de materia alba que tan frecuentemente se encuentra sobre los dientes, ni es el material de color blanco gomoso que se conoce como sarro, el que con frecuencia abunda en caso de fiebre que a menudo se presenta en la boca en pequeñas cantidades en ausencia de fiebre”. Este autor estaba seguro de su importancia en el proceso carioso.⁹

La placa dental o microcosmos, como Arnim la designó, tiene una composición química y física variables; pero por lo general, consiste en componentes salivales, células epiteliales

descamadas y microorganismos. De manera característica se forma en las superficies dentales que no se limpian en forma constante y aparece como una película delgada que se puede acumular en un grado perceptible en 24 a 48 horas.⁹

Aunque la composición de la placa dental varía con el tiempo de evolución y la localización, podría definirse de forma general como una “biopelícula formada por microorganismos adheridos entre sí y a una superficie dentaria (considerando como tal a la película adquirida), embebidos, entremezclados y rodeados de un material extracelular abiótico de un triple origen: bacteriano, saliva y dieta”. Con frecuencia se utiliza el término de materia alba para referirse a los depósitos de bacterias, leucocitos, células epiteliales descamadas y restos de alimentos sobre las superficies dentales y placas, pero que son arrastrados por un chorro de agua.¹⁰

La placa dental puede ser definida como los depósitos blandos que forman el biofilm adherido a la superficie dentaria, u a otras superficies duras en la cavidad bucal, incluyendo prótesis fijas o removibles. La placa es diferenciada de otros depósitos que también pueden ser hallados en la superficie dentaria, tales

como la materia alba y el cálculo. La materia alba se refiere a acumulaciones blandas de células bacterianas que tienen una estructura poco organizada y que son fácilmente desplazadas con agua en spray. El cálculo es un depósito duro que se forma por la mineralización de la placa dental y está generalmente cubierto por una capa de placa no mineralizada.¹¹

3. CLASIFICACIÓN

La placa dental puede ser clasificada en términos de su localización, como supragingival y subgingival; de su potencial patógeno, como cariogénica o periodontopatogénica; y de sus propiedades, como adherente y no adherente. Estas clasificaciones no son excluyentes; sin embargo, en general, la placa supragingival es adherente y contiene una flora predominantemente Gram-positiva, características éstas de organismos cariogénicos. Por el contrario, la subgingival está compuesta en mayor cantidad de microorganismos Gram-negativos, es menos adherente y preferentemente periodontopatogénica.³

La placa dental aparece en sectores supragingivales, en su mayor parte sobre el tercio gingival de los dientes; y subgingivalmente, con predilección por grietas, defectos, rugosidades y márgenes desbordantes de restauraciones dentarias. Se forma en iguales proporciones en el maxilar superior y la mandíbula, más en los dientes posteriores que en los anteriores, más en las superficies proximales, en menor cantidad en vestibular, y menor aún en la superficie lingual.¹

Existen tres tipos de placas dentales: supragingivales o coronales (de superficies lisas, fosas y fisuras y proximales), subgingivales y radicales. Cada una de ellas presenta aspectos microbianos y bioquímicos que en algunos casos las diferencian claramente; en otros, la distinción no resulta fácil. Igualmente, las placas pueden localizarse en prótesis dentales, materiales de ortodoncia, implantes y cualquier otro tipo de aditamentos.¹⁰

3.1. Supragingivales o coronales:

A su vez estarán localizadas en: a) superficies lisas como las caras vestibulares, palatinolinguales de los dientes y, de forma

especial, en zonas de estancamiento, como el margen gingival (placa de superficies lisas o dentogingival, cuando se sitúa junto al margen de la encía); b) zonas de retención de las áreas de contacto de los dientes o espacios interproximales (placa proximal) y; c) otras zonas de retención como las fosas, fisuras y surcos de las superficies oclusales (placa de fosas y fisuras). De ellas, la mejor conocida es la de superficies lisas, ya que las otras son difíciles de estudiar; debido a la complejidad de efectuar tomas de muestras sin que se contaminen con zonas vecinas o con la propia saliva.¹⁰

La placa dental supragingival se encuentra en o por encima del margen gingival; la placa supragingival en contacto directo con el margen gingival es referida como placa marginal.¹¹

3.2. Subgingival:

Está situada por debajo del margen de la encía en el surco gingival o profundiza en el curso de enfermedades periodontales, en el saco periodontal; a su vez, en este último caso se distinguen tres zonas: a) adherida al diente, b) flotante, y c)

adherida al epitelio.¹⁰

La diferenciación entre la placa subgingival y la de superficies lisas, especialmente a nivel dentogingival, es fácil cuando el margen de la encía marca fisiológicamente dicha separación ya que, en determinadas circunstancias, como el desplazamiento coronario de los tejidos gingivales por hiperplasia, o cuando exista una recesión gingival con migración apical, puede producirse una unificación topográfica de ambas.¹⁰

3.3. Radiculares:

Aparece cuando las superficies radiculares quedan expuestas al ambiente bucal (placa radicular). Esta entidad es discutible, muestra importantes semejanzas con la placa subgingival adherida al diente y la de superficies lisas en la zona dentogingival.¹⁰

Cuando las placas localizadas en la corona y en el cemento alcanzan cierto espesor y se calcifican, especialmente las de la zona dentogingival o la radicular, pueden observarse como una

capa blancuzca o amarillenta (cálculo, sarro o tártaro); su existencia se comprueba por raspado o mediante sustancias reveladoras que colorean dichas entidades. Por el contrario, la placa subgingival verdadera, cuando no forma una unidad con la de superficies lisas, es difícil de observar mediante la inspección clínica, debido a su peculiar situación anatómica, a menos que se pueda separar la encía con un chorro de aire; por otra parte, el cálculo subgingival suele ser de un color más negruzco, y su diagnóstico se realiza por medio del sondaje periodontal.¹⁰

4. COMPOSICIÓN DE LA PLACA DENTAL

La placa dental está compuesta por bacterias que son sus componentes principales y por una matriz intercelular que consta en gran medida de hidratos de carbono y proteínas que yacen, no sólo entre las distintas colonias bacterianas, sino también entre las células individuales y entre las células y las superficies de los dientes.⁷

El 80% de la placa dental es agua y el 20% restante se le denomina fase sólida, que a su vez, está constituida en un 70%

por bacterias y en un 30% por matriz orgánica o acelular. El agua se distribuye en un 60% en el interior de las bacterias, y el otro 40% en la matriz; esta última será la responsable de los procesos bioquímicos que suceden en la placa.¹²

La matriz orgánica o acelular se dispone entre los microorganismos y en su entorno sirviéndoles de aporte nutricional. Se origina de la microbiota, la dieta y la saliva. Básicamente está constituida por compuestos inorgánicos, agua, hidratos de carbono, proteínas, glucoproteínas y lípidos. Entre los compuestos inorgánicos predominan el potasio, sodio, fosfatos inorgánicos y calcio; en menores concentraciones pueden encontrarse magnesio, hierro y flúor. La cantidad y calidad de estos elementos tiene mucha variedad; ya que están relacionados con el contenido mineral del agua de consumo, la composición del esmalte, la edad, la dieta, etc.¹²

5. COMPOSICIÓN MICROBIANA DE LA PLACA DENTAL

En un gramo de placa dental húmeda, pueden existir aproximadamente doscientos mil millones de microorganismos.

Ello comprende, no sólo muchas especies bacterianas distintas, sino también algunos protozoarios, hongos y virus. Sin embargo, estreptococos y bacterias filamentosas Gram-positivas parecen estar entre los microorganismos más predominantes de la placa que se encuentra en la superficie coronaria de los dientes. Al alcanzar el surco gingival y la superficie radicular, la composición bacteriana de la placa cambia, con predominio de formas filamentosas, particularmente especies de *Actinomyces*.⁷

En la placa temprana, la flora bacteriana es relativamente simple, constando predominantemente de cocos Gram-positivos, en particular estreptococos, neisserias, y unos pocos bacilos y filamentos Gram-positivos. Cuando la placa dental permanece en la boca por períodos más prolongados, se va haciendo gradualmente más compleja. Así, al cabo de 7 días aumenta la cantidad de microorganismos anaerobios, tienden a disminuir las especies aeróbicas y hay una reducción en la proporción total de estreptococos. Las placas que han podido desarrollarse durante 14 días o más, tienen un aspecto generalmente más filamentoso que la temprana, pueden producir una alta cuenta de vibriones y espiroquetas, además de otros microorganismos anaerobios.⁷

A medida que la placa se va haciendo más gruesa, se hace menos probable que el oxígeno pueda difundir desde su superficie a las capas más profundas. De esta manera, los microorganismos aerobios residen en las capas externas de la placa, los anaerobios en las más profundas y los facultativos en todo su espesor. Además de la edad de la placa, la composición bacteriana también es influenciada por el sitio del que se tome la muestra de la placa, el sujeto estudiado y la dieta consumida.

6. PLACA DENTAL Y BIOFILM (BIOPELÍCULA) MICROBIANO

Estudios de distintos ecosistemas han mostrado que la vasta mayoría de los microorganismos existen en forma natural asociados con una superficie. El término “biofilm” es usado para describir comunidades de microorganismos íntimamente relacionados a una superficie; tales microorganismos están usualmente organizados en forma espacial en una estructura tridimensional, están encerrados en una matriz de material extracelular, ambos derivados de la misma célula y del ambiente. Si la biopelícula microbiana estuviera simplemente en fase líquida de las células que se encuentran adheridas a la superficie y las propiedades de las comunidades microbianas

fueran únicamente la suma de esas poblaciones constitutivas, entonces el interés en estas particularidades habría estado limitado al impacto científico. Sin embargo, recientes investigaciones en estos últimos años han revelado que las células en crecimiento como los biofilms, tienen propiedades únicas, algunas de las cuales han llegado a tener gran significado clínico.⁶

Entre las propiedades generales de la biopelícula podemos mencionar las siguientes:

1. Protección de las defensas del hospedero y de los depredadores.
2. Protección de la disecación.
3. Protección de agentes antimicrobianos.
4. Fenotipo asociado a la superficie.
5. Tasa de crecimiento lenta.
6. Penetración deficiente.
7. Inactivación / Neutralización.
8. Expresión genética nueva y fenotipo: una consecuencia de

la expresión genética alterada, puede también ser un incremento en la resistencia de los agentes antimicrobianos.

9. Persistencia en los sistemas en movimiento.
10. Heterogenicidad ambiental y espacial.
11. Organización espacial facilitando las interacciones metabólicas.
12. Elevada concentración de nutrientes.

La placa dental fue probablemente el primer biofilm en ser estudiado en términos de composición microbiana, o según su sensibilidad a los agentes antimicrobianos. En el siglo XVII, Antonie Van Leeuwenhoek, fue el pionero en los avances de los estudios de los biofilms por observación microscópica directa, cuando reportó una alta diversidad y número de animáculos presentes en muestras tomadas de dientes humanos. También condujo los primeros estudios de las nuevas propiedades de las células que crecen en la superficie, cuando falló al desintegrar la placa dental *in situ* en sus propios dientes, a través del enjuague prolongado con vinagre.⁶

7. FORMACIÓN DE LA PLACA DENTAL

La formación de la placa dental viene a ser el resultado de una serie de complejos procesos que involucran una variedad de componentes bacterianos y de la cavidad bucal del hospedero.³

El proceso de formación de la placa dental supragingival es un ejemplo típico de sucesión autogénica, en la cual, factores de origen microbiano son los responsables en el desarrollo de las comunidades. El incremento en el número y la diversidad de anaerobios obligados, una vez que el diente está presente, es un ejemplo de sucesión autogénica, en la cual el desarrollo de la comunidad es influenciado por factores microbianos.¹³

Según Liébana, la sucesión autogénica es la sustitución de la microbiota por modificaciones en el hábitat debidas a factores microbianos. De esta manera, microorganismos que constituyen una comunidad pionera crean condiciones óptimas para el desarrollo de otros, e incluso hostiles para ellos; así sólo, los más adaptados persistirán en el hábitat modificado, mientras que otros terminarán por ser sustituidos. Estas modificaciones van

ligadas a muchos factores, tales como: consumo de nutrientes, producción de ácidos, determinación de una atmósfera reducida, producción de peróxido de hidrógeno, síntesis de bacteriocinas, etc.¹⁰

La formación de la placa dental puede ser dividida dentro de importantes etapas, aunque se aprecia que la formación de la biopelícula es un proceso dinámico; y que la adhesión, crecimiento, remoción y readhesión de la bacteria es continuo. Estas etapas son ¹⁴:

1. La adsorción del hospedero y polímeros bacterianos para formar en la superficie del diente una película condicionada (la película adquirida) [Lie, 1977; Al-Hashimi y Levine, 1989: Citado por Marsh, (2000)].¹⁴
2. El transporte de microorganismos a la película adquirida en la superficie dentaria; generalmente, esto es un proceso pasivo facilitado por el flujo de secreciones bucales.^{6,14}
3. Grandes interacciones físico-químicas, entre la superficie de la célula microbiana y la película adquirida [Busscher y col., 1992; Busscher y van der Mei., 1997: Citado por Marsh, (2000)].

La interacción de las fuerzas atractivas de Van der Waals, y la repulsión electrostática debido a la acción recíproca de las cargas moleculares en la superficie de la célula bacteriana y la película adquirida, produce un área débil de atracción que facilita la adhesión reversible.¹⁴

4. Interacciones sólido-químicas, entre las adhesinas en la superficie de la bacteria y los receptores en la película adquirida; estas interacciones generalmente resultan en una adhesión irreversible [Ellen y Burne., 1996: Citado por Marsh, (2000)].¹⁴

5. La coagregación de microorganismos para la adhesión celular; esta etapa resulta en un aumento de la diversidad en la microflora de la placa.^{6,14}

6. La multiplicación de los organismos adheridos para producir crecimiento confluyente y el biofilm [Marsh, 1995; Marsh y Bradshaw, 1995: Citado por Marsh, (2000)]. También ocurre la síntesis de polímeros extracelulares.^{6,14}

7. La separación de las células desde el biofilm dentro de la fase plantónica (generalmente saliva), facilitando la colonización en zonas libres.⁶

La placa dental puede ser realmente visualizada en el diente

después de 1 a 2 días, sin medidas de higiene bucal. La placa es blanca, grisácea o amarilla y tiene una apariencia globular. El movimiento de los tejidos y los alimentos sobre el diente resultan en un mecanismo de remoción de placa; éste es particularmente efectivo en los dos tercios coronales de la superficie dentaria. En consecuencia, la placa es observada típicamente en el tercio gingival de la superficie dentaria. Los depósitos de placa también se forman en cavidades, fosas y fisuras en la estructura del diente; debajo de restauraciones sobreobturadas; y alrededor de dientes apiñados. La ubicación y proporción de la formación de la placa varía entre individuos, y factores determinantes que incluyen la higiene bucal, así como factores del hospedero, tales como la dieta, o composición y proporción del fluido salival.¹¹

Pequeñas cantidades de placa que no son perceptibles en la superficie dentaria, pueden ser detectadas por el uso de una sonda periodontal o un explorador a lo largo del tercio gingival del diente. Otro método común para detectar pocas cantidades de placa es el uso de soluciones reveladoras. La formación de placa dental interproximal es menos evidente visualmente, pero también puede ser monitoreada con un explorador o una sonda.¹¹

8. FORMACIÓN DE LA PELÍCULA ADQUIRIDA

La película adquirida es una capa delgada, lisa, incolora, translúcida, difusamente distribuida sobre la corona, en cantidades algo mayores cerca de la encía. En la corona, se continúa con los componentes sub-superficiales del esmalte. Al ser teñida con agentes colorantes, aparece como un lustre superficial, coloreado, pálido, delgado, en contraste con la placa granular teñida más profunda.¹

La película adquirida es una capa amorfa, acelular de algo menos de 1 mm. de espesor, constituida por la adsorción selectiva sobre las superficies dentarias de componentes salivales, especialmente glucoproteínas y proteínas, y en menor grado, de productos secretados por los microorganismos. Habrá diferencias en la composición de las distintas películas, según se establezcan sobre cemento, esmalte, cálculo, e incluso sobre materiales artificiales.¹⁰

La película se forma sobre una superficie dentaria limpia en pocos minutos, mide de 0.05 a 0.8 micrones de espesor, se

adhiera con firmeza a la superficie del diente y se continúa con los prismas del esmalte por debajo de ella. Es un producto de la saliva, no tiene bacterias, es ácido periódico de Schiff (PAS) positiva, y contiene glucoproteínas, derivados de glucoproteínas, polipéptidos y lípidos.¹

La formación de la película adquirida en la superficie dentaria es la fase inicial en el desarrollo de la placa dental. Todas las superficies de la cavidad bucal, incluyendo las superficies tisulares, así como superficies dentarias, prótesis fijas y removibles, son cubiertas con una película de glicoproteínas. Esta película se origina de componentes de la saliva y fluido crevicular, así como de productos celulares bacterianos y del hospedero.¹¹

En la superficie limpia del esmalte, los cristales hexagonales de hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, se disponen en forma de una red cristalina semejante a un panal. Los iones Ca^{2+} se sitúan en: a) los vértices del hexágono, y b) en su interior, aunque en distintos planos, formando dos triángulos equiláteros superpuestos alrededor de cada uno de los grupos hidroxilos. Los aniones fosfatos tienen forma tetraédrica con el átomo de

fósforo en el centro y los de oxígeno en los vértices; los grupos tetraédricos se sitúan por parejas en cada uno de los lados de los hexágonos. Esto indica que los iones cálcicos están más o menos “protegidos” por los aniones fosfatos, por lo que la superficie de la hidroxiapatita tendrá una carga predominantemente negativa (Fig. 1).¹⁰

Cuando la saliva cubre la corona se constituye la capa de hidratación de Stern, de tal forma que la superficie de la hidroxiapatita atrae iones contrarios, por lo que en dicha estructura predominarán iones calcio con algunos aniones fosfatos. Este carácter anfotérico (cargas positivas y negativas), permite posteriormente la adsorción mayoritaria de proteínas ácidas interaccionando con zonas positivas cálcicas, y de forma minoritaria, la de proteínas básicas con otras aniónicas de fosfatos (Fig. 1).¹⁰

Diversos estudios han señalado que entre los aminoácidos que configuran la película adquirida destacan la prolina, glicina, tirosina, treonina, serina, etc. Las proteínas detectadas son muy variables; entre ellas cabe destacar las siguientes: amilasa, lisozima, inmunoglobulinas A y G, mucina, histatinas,

estaterinas, cistatinas, glucosiltransferasas y, sobre todo, una glucoproteína de 62kDa rica en prolina. El gran contenido de proteínas con grupos aniónicos libres proporciona a esta película adquirida un carácter especialmente electronegativo.¹⁰

La función de la película es de barrera protectora, proporcionando lubricación a la superficie y previniendo la disecación tisular. Sin embargo, también suministra el substrato con el cual la bacteria se adhiere en el ambiente. Debido a que las células del tejido epitelial están continuamente cambiándose, la población bacteriana en la superficie tisular es desorganizada. En contraste, la película adquirida en las superficies duras no se desprende, proporcionando el substrato con el cual la bacteria progresivamente se acumula para formar la placa dental.¹¹

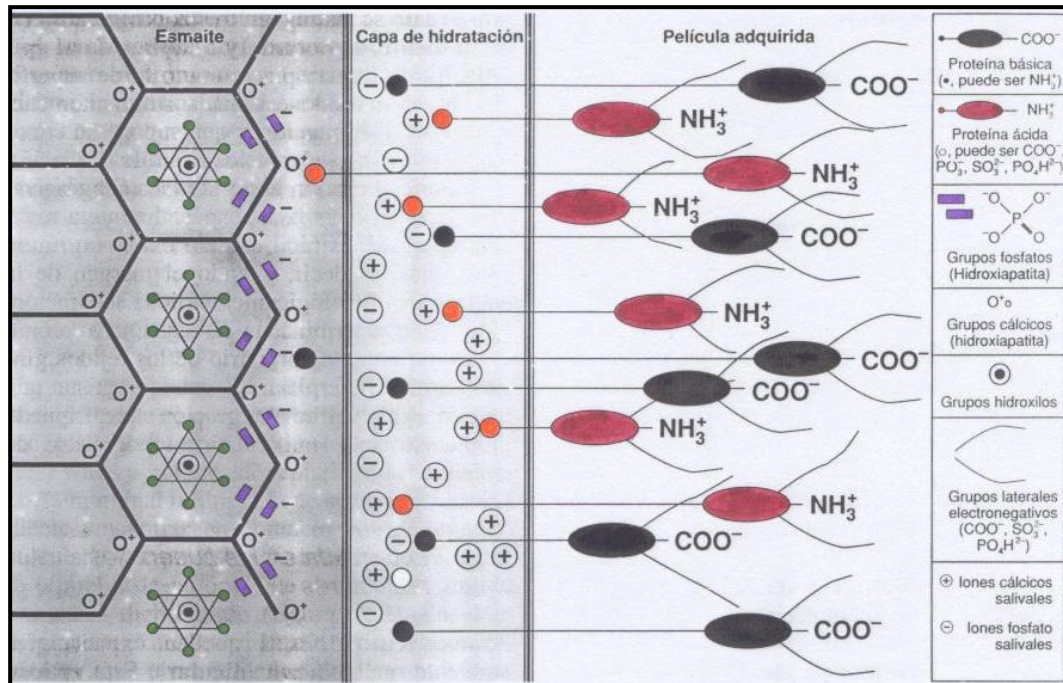


Figura 1: Esquema de formación de la película adquirida.¹¹

9. TRANSPORTE MICROBIANO A LA SUPERFICIE DEL HOSPEDERO Y AMPLIO RANGO DE FUERZAS FÍSICO-QUÍMICAS

Los microorganismos son transportados pasivamente a la superficie dentaria por el flujo de la saliva; sólo pocas especies bacterianas tienen movilidad. Los organismos no colonizan el esmalte limpio, pero interactúan con especies moleculares del hospedero y especies de origen bacteriano presentes en la película adquirida. Debido a que la célula se aproxima a la superficie de la película adquirida, se produce un amplio rango de fuerzas físico-químicas. Los microorganismos están cargados negativamente producto de las moléculas en su superficie celular, mientras que las proteínas ácidas presentes en la película adquirida, también producirán una malla de carga negativa.⁶

La teoría de Derjaguin – Landau y Verwey – Overbeek ha sido usada para describir la interacción entre partículas inertes y el sustrato. Esta teoría afirma que la energía interactiva total, V_T , de dos partículas planas, es determinada únicamente por la cantidad de energía atractiva de Van der Waals (V_A), y

usualmente por la energía electrostática repulsiva (V_R). Las partículas en suspensión acuosa y las superficies en contacto con las soluciones acuosas pueden adquirir una carga, debido por ejemplo, a la adsorción preferencial de iones desde la solución, o a la ionización de ciertos grupos adheridos a la partícula o a la superficie. La carga de una superficie en solución es siempre balanceada exactamente por un número equivalente de iones contrarios. De este modo, la carga de la superficie y la correspondiente carga de iones contrarios en solución, forman una doble capa eléctrica, la cual es inversamente proporcional a la fuerza iónica del ambiente. A medida que una partícula se aproxima a la superficie, hay una débil atracción de las fuerzas de Van der Waals inducida por la fluctuación dipolar entre las moléculas de dos superficies adheridas. Esta atracción aumenta a medida que la partícula se mueve para acercarse al sustrato. Sin embargo, si el acercamiento continúa a la superficie, la fuerza repulsiva es encontrada, debido a la superposición de las dobles capas eléctricas.⁶

Las curvas pueden ser trazadas, las cuales muestran la variación de la energía interactiva total, V_T , de una partícula y una superficie con la distancia de separación, h (Fig. 2). Una

ma de atracción puede suceder por dos valores de h ; esto es referido como el mínimo primario (h muy corta), y el mínimo secundario ($h = 10 - 20$ nm), y son separados por la máxima repulsión. La naturaleza reversible de la deposición bacteriana sugiere que el mínimo primario no es usualmente encontrado, mientras que la elevada fuerza iónica de la saliva aumentaría la probabilidad de que la bacteria bucal experimente el mínimo secundario. La bacteria capturada por la superficie de este modo, está en equilibrio con el organismo remanente en el medio suspendido, mientras que el número de células atrapadas dependerá de la concentración de la bacteria en suspensión y de la profundidad del mínimo secundario.⁶

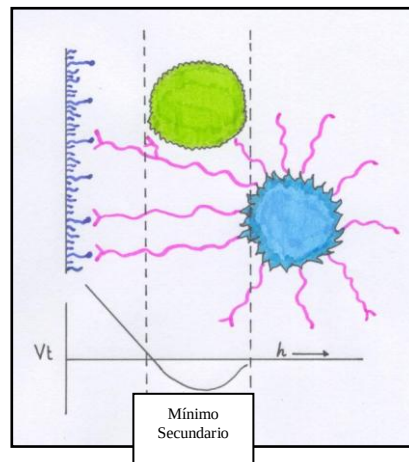


Figura 2: Curva del Mínimo Secundario.³

El patrón de deposición puede también ser influenciado por el tipo de interfase desde la cual la bacteria se deposita. En muchos sistemas la bacteria se adhiere desde la interfase sólida-líquida, que es cuando una superficie es sumergida en una suspensión de microorganismos. En la boca, sin embargo, la interfase sólido-líquido-aire es común, puede ser estática; pero es más probable que sea dinámica, debido al continuo drenaje de saliva sobre los tejidos bucales. La bacteria bucal y el material polimérico en saliva, preferentemente se adsorbe en la interfase sólido-líquido-aire, y así el movimiento de estas interfases sobre el diente puede ser importante en la formación de la placa dental.⁶

Con una distancia de separación entre 10 y 20 nm, los organismos pueden ser atrapados irreversiblemente en el mínimo secundario débil. Con el tiempo, esta interacción puede hacerse irreversible debido a las adhesinas en la superficie celular. Para que esto ocurra, la película de agua debe ser removida entre las superficies que interactúan. Un importante papel de la hidrofobicidad celular y los componentes celulares hidrofóbicos de la superficie, es su efecto de deshidratación en la película, permitiéndole a la superficie acercarse, para que pequeños

rangos de interacciones puedan ocurrir. La relación directa entre el grado de hidrofobicidad celular de la superficie y la adhesión de la bacteria bucal a las superficies cubiertas de saliva, ha sido demostrada.⁶

La unión de la bacteria a la hidroxiapatita cubierta de saliva ha sido usada como un modelo de adhesión de la bacteria bucal. Cada unión es saturable y reversible, y puede ser descrita por la adsorción isotérmica de Langmuir. La unión de *Streptococcus sanguis* y ciertos *Actinomyces* a la hidroxiapatita mejora por la película adquirida, mientras que la adhesión de otras especies (por ejemplo: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*) fue reducida.⁶

10. TRANSPORTE DE LAS BACTERIAS HASTA LA PELÍCULA ADQUIRIDA

Casi simultáneamente a la formación de la película adquirida, las primeras bacterias comienzan a llegar a ella. La mayoría de estas bacterias se originan de la microbiota salival alcanzando la película adquirida por el flujo de la saliva, por movimiento

browniano, por la movilidad propia de las bacterias, o por aquellas inmóviles adheridas a otras móviles. En menor grado, algunos microorganismos son transportados por células epiteliales descamadas que los llevan adheridos, o por el roce del dorso de la lengua, que posee una amplia microbiota sobre las superficies del diente.¹²

11. ADHESIÓN REVERSIBLE A LA PELÍCULA ADQUIRIDA

Inmediatamente, algunas de las primeras bacterias que alcanzan la película adquirida se unen a ella de forma reversible. Para ello vencen la repulsión de cargas electronegativas de las superficies que interactúan mediante enlaces de hidrógeno o fuerzas de Van der Waals. Muchas de estas bacterias desaparecerán en las etapas siguientes; otras, por el contrario, persistirán uniéndose entre sí o a otras nuevas que van llegando, además de reforzar sus mecanismos de adhesión a la película adquirida al reconocer ya de forma específica sus receptores.¹²

COLONIZACIÓN PRIMARIA

Para que las bacterias se establezcan en un tejido (adhesión), tendrán previamente que acceder a él. Dicho acceso se realiza por una puerta de entrada que puede ser específica o no, única o múltiple. Por otra parte, las bacterias que ingresan en el hospedero tienen dos orígenes: las que proceden del entorno (procedencia exógena), y las que provienen de la microbiota normal convertidas en patógenas (procedencia endógena). Tras el acceso a los epitelios, el establecimiento en los mismos se produce mediante la adhesión, y en parte por la coagregación o adherencia interbacteriana heterotípica, es decir, entre bacterias no relacionadas. Por otra parte, es preciso tener en cuenta que la agregación o adherencia interbacteriana homotípica, ocurre entre bacterias relacionadas, siendo un proceso importante para el desarrollo de microcolonias en los tejidos.¹⁵

En la colonización primaria se produce una adhesión irreversible por interacción entre receptores de la película adquirida y adhesinas de nuevas bacterias, o de las que previamente existían.¹²

Cabe recordar que las adhesinas son moléculas externas bacterianas, cuya función es la de fijar las bacterias a una superficie, ya sea un tejido o material artificial (adhesión), o a otras bacterias (agregación y coagregación). Las principales adhesinas son: a) la capa mucosa; b) la cápsula; c) las glucosiltransferasas (GTF); d) proteínas que fijan glucanos; e) glucoproteínas que se fijan a la película adquirida; f) los ácidos teicoicos, especialmente los lipoteicoicos (ALT); g) los polisacáridos del antígeno O; y h) las fimbrias.¹⁵

Muchas adhesinas bacterianas son lectinas (proteínas unidas a carbohidratos), que funcionan como receptores en la superficie dentaria. Dentro de estas adhesinas describiremos brevemente las de *Streptococcus mutans*, por ser éste la bacteria más estrechamente vinculada con el proceso de caries dental. Estas incluyen P1, glucosiltransferasas y las fimbrias.³

La adhesina P1 es una proteína mayor de superficie, que juega un papel determinante en la adherencia de los estreptococos a la superficie dentaria. Por tal motivo existe mucha atención centrada en esta estructura como una vacuna potencial, por ser el antígeno principal de *S. mutans*.³

La enzima glucosiltransferasa puede actuar como una adhesina bacteriana, interactuando con receptores a nivel de la película adquirida. Permite la síntesis de glucanos extracelulares de la dieta, contribuye a la virulencia de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus cricetus*, las tres especies del grupo mutans más comúnmente asociadas con la etiología de la caries dental en humanos.³

Las fimbrias bacterianas son definidas como apéndices de superficie de naturaleza proteica, no flagelares, filamentosas, de pequeño tamaño (100-300 nm), que emanan de la superficie celular bacteriana. Han sido identificadas en menor cantidad entre especies Gram-positivas.³

Igualmente, los receptores son los compuestos que interaccionan con las adhesinas. En el hospedero pueden tratarse de: a) elementos celulares (por ejemplo: glicocáliz, proteínas y glucoproteínas de la membrana citoplasmática); b) sustancias existentes en el medio de origen celular (por ejemplo: fibronectina o mucina); y c) superficies lisas a través de la película adquirida que las recubre.¹⁵

Las fibras de colágeno que son los componentes estructurales principales del tejido conjuntivo, pueden actuar como receptores para algunos grupos bacterianos como los estreptococos. Sin embargo, el principal grupo de receptores a nivel del hospedero se encuentra en la saliva. Estos receptores cuando son adsorbidos a la mucosa bucal o a la superficie del esmalte, pueden influir sobre la adherencia bacteriana.³

Dentro de la película adquirida, las proteínas ricas en prolina y la estaterina pueden promover la adherencia de microorganismos del grupo de los actinomyces y estreptococos. Igualmente, ensayos inmunológicos han permitido determinar la presencia de amilasa, lisozima, albúmina e inmunoglobulinas en la película adquirida.³

Los primeros colonizadores del diente parecen ser *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* y *Actinomyces naeslundii*. Pronto le siguen *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus parasanguis*, *Neisseria* spp., *Rothia dentocariosa*, *Corynebacterium matruchotii*, y en menor proporción otras bacterias. Estas, una vez establecidas, comienzan a multiplicarse hasta aproximadamente las 48 horas

de la formación de la película adquirida, momento en el que finaliza esta etapa. A través de microscopia electrónica, se observarán imágenes en granos de maíz (cocos), y pocas formas filamentosas (bacilos).¹²

Las bacterias que colonizan inicialmente la película adquirida en la superficie dentaria son predominantemente microorganismos facultativos Gram-positivos, tales como *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguis*. Estos colonizadores iniciales se adhieren a la película por moléculas específicas, llamadas adhesinas, presentes en la superficie bacteriana que interactúan con los receptores presentes en la película. Por ejemplo, las células de *Actinomyces viscosus* poseen estructuras fibrosas de proteínas llamadas fimbrias que se extienden desde la superficie de la célula bacteriana.¹¹

La placa dental luego madura por medio del crecimiento de especies adheridas, así como la colonización y crecimiento de especies adicionales. En esta sucesión ecológica del biofilm, hay una transición del medio ambiente aeróbico caracterizado por especies facultativas Gram-positivas, por un medio ambiente sumamente privado de oxígeno, en el cual predominarán los

microorganismos anaeróbicos Gram-negativos.¹¹

Los fenómenos y las características más importantes que definen la colonización primaria pueden resumirse de la manera siguiente ¹²:

- Existirá multiplicación bacteriana con procesos de agregación y pocos procesos de coagregación.
- La producción de proteasa de IgA1 por parte de *S. sanguis*, *S. mitis* y *S. oralis*, es un factor de colonización importante. De esta manera, se elimina de la película adquirida esta inmunoglobulina que bloquea adhesinas, por su capacidad de unirse a las bacterias a través de su porción Fab.
- La acción conjunta de neuraminidasas y glucosidasas producidas por los estreptococos colonizadores primarios, elimina del ambiente moléculas de mucinas de tipo 2 que tienen capacidad antiadhesiva por su efecto aglutinante.

- Las especies peroxidogénicas colonizadoras iniciales (por ejemplo, estreptococos del grupo oralis) ejercerán una acción selectiva para el establecimiento de otras.

- En esta etapa de la placa, no es extraño la presencia de bacterias aerobias; y de anaerobias facultativas, las cuales se adaptan perfectamente al metabolismo aeróbico. La excepción la constituyen las especies de *Veillonella*, que pueden detectarse en pequeñas proporciones; no existe una justificación clara de su presencia, pero se piensa en su gran capacidad para sobrevivir en presencia de oxígeno por elaborar una potente superóxido dismutasa.

- Las fuentes nutricionales de los microorganismos en esta etapa son fundamentalmente glucoproteínas salivales y, en menor proporción, la dieta.

- Predominan preferentemente procesos adhesivos a la película adquirida con distintos tipos de uniones.

13. ADHERENCIA

La adherencia microbiana es uno de los campos más activos de investigación, no sólo en ecología bucal, sino también en otros campos de la microbiología. Como la adherencia es un factor esencial para la colonización, tanto de especies patógenas, como residentes, aquellos intentos que puedan exitosamente interferir con este proceso, podrían tener implicaciones importantes desde el punto de vista terapéutico.³

En cualquiera de sus variantes (adhesión, agregación o coagregación), para que se produzca el proceso adhesivo, han de interaccionar adhesinas y receptores. Un paso previo es, que tanto uno como otros estén libres; por ejemplo, a veces la mucina que recubre las células o la fibronectina pueden bloquear algunos receptores, en otras ocasiones algunas cápsulas cubren las adhesinas. Por otra parte, las superficies que interactúan son electronegativas; así, para que se produzca el proceso adhesivo debe vencerse la repulsión entre ellas. Aunque en muchos casos el mecanismo íntimo no es bien conocido, se han propuesto diversos modelos ¹⁵:

- Aidez entre superficies, por ejemplo, entre moléculas hidrófobas, o entre una enzima y el compuesto resultante de su actividad (glucosiltransferasas y glucanos) (Fig. 3).

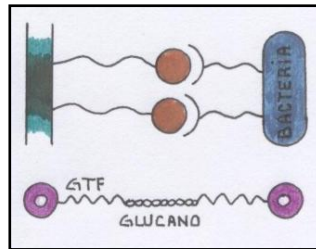


Figura 3: Interacción de moléculas lipófilas y adhesivas hidrófobas.

Aidez enzima – substrato.¹⁵

- Alejamiento de las zonas más electronegativas por organelos (fimbrias), y acortamiento del espacio que separa las superficies (Fig. 4).

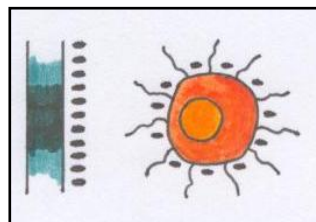


Figura 4: Alejamiento de zonas electronegativas por organelos, y

acortamiento del espacio que separa superficies.¹⁵

- Complementariedad entre los elementos que interaccionan a modo de una llave y cerradura (Fig. 5).

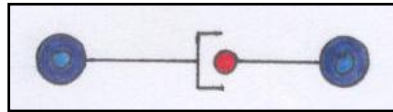


Figura 5: Complementariedad entre superficies.¹⁵

- Compuestos existentes que aproximan adhesinas y receptores, así se comportan cationes divalentes o ciertas glucoproteínas a través de interacciones iónicas, (en la cavidad bucal están presentes en la saliva, y se les conocen como aglutininas) (Fig. 6).

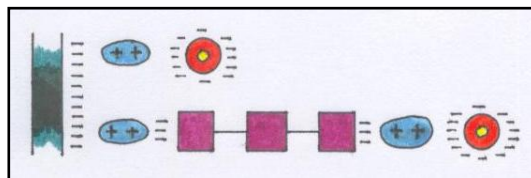


Figura 6: Aproximación directa por cationes, e indirecta por glucoproteínas.¹⁵

- Diversos tipos de fuerzas químicas como enlaces covalentes, iónicos, de hidrógeno, hidrófobas y de Van der Waals (Fig. 7).

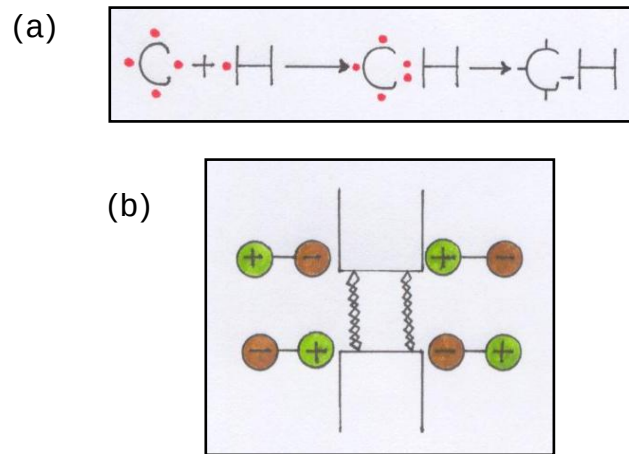


Figura 7: (a) Enlaces covalentes (dos átomos con electrones desapareados, •, en su capa externa forman enlaces compartiendo pares de electrones. (b) Fuerzas de Van der Waals (movimiento de electrones en las moléculas con formación de campos eléctricos).¹⁵

- Interacciones específicas que suponen el reconocimiento directo entre ligandos (adhesinas) y los receptores.

14. MECANISMOS DE ADHERENCIA

Algunos de los mecanismos propuestos para la adherencia

referidos a la cavidad bucal, son los siguientes:

14.1. Uniones lectina-carbohidrato

Son aquellas que se establecen entre una determinada secuencia de azúcares y los péptidos de una proteína capaz de reconocerla de manera específica (lectina). Una u otra molécula pueden estar, tanto en el receptor, como en la adhesina. La secuencia de azúcares puede pertenecer a un polisacárido, a glucoproteínas o a un glucolípido. Una lectina soluble, además, puede encontrarse libre en el medio y establecer una unión entre una molécula de azúcar que está ubicada en la adhesina y otra localizada en el receptor.¹⁵

Bacterias como *A. naeslundii* y *S. mitis*, poseen neuraminidasas que, separando ácido siálico de la mucina de tipo 1, dejan libres receptores con galactosa que permiten este tipo de uniones con lectinas asociadas a fimbrias de tipo 2 del grupo *A. naeslundii*, y de otras bacterias que en la etapa siguiente se adherirán a la película adquirida (*Leptotrichia buccalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*,

Eikenella corrodens, etc.).¹²

14.2. Uniones proteína-proteína

Suponen el reconocimiento recíproco entre péptidos superficiales ubicados en la adhesina y el receptor.¹⁵

Estos dos tipos de uniones (lectina-carbohidrato y proteína-proteína) son responsables de las imágenes típicas en las placas dentales cuando participan en procesos de coagregación: mazorcas de maíz (un eje bacilar con cocos adheridos), pilosas (un eje bacilar con bacilos adheridos) y mixtas (Fig. 8).¹⁵

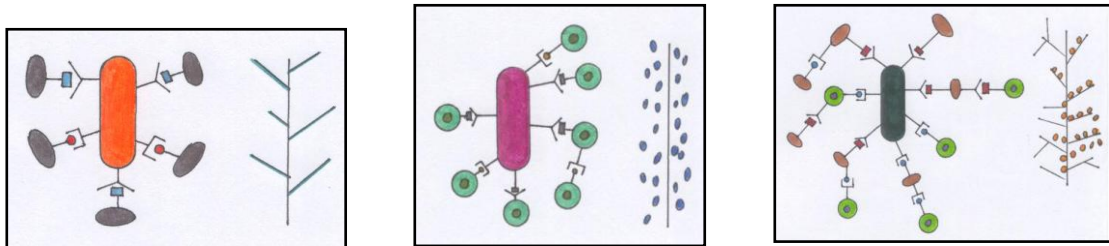


Figura 8: Coagregación (proteína-proteína y lectina-carbohidrato).¹⁵

De esta manera, proteínas de la pared de *S. parasanguis* y *S. gordonii* se unen a la α -amilasa; proteínas de la pared de esta última especie y las fimbrias de tipo 1 de *A. naeslundii*, lo hacen con proteínas ricas en prolina y estaterinas, *S. sanguis* con porciones de ácido siálico de la mucina, *S. mutans* a través de proteínas parietales con proteínas ricas en prolina, etc.¹²

Tanto en las uniones proteína-proteína, como lectina-carbohidrato, intervienen enlaces iónicos, covalentes y fuerzas electrostáticas ligadas a cationes divalentes salivales como el calcio.¹²

14.3. Uniones mediadas por glucanos

Los glucanos, constituyentes de la capa mucosa, forman un material adherente que inespecíficamente puede unirse al diente. El mecanismo específico permite establecer uniones muy selectivas entre las bacterias y la película adquirida. De esta manera intervienen: a) glucanos de tipo mutano, más difícilmente degradables que los dextranos, que pueden estar formando parte de la capa mucosa o libres en el medio; b) glucosiltransferasas,

ligadas a las superficies bacterianas o excretadas, pero siempre con capacidad para unirse a los aceptores glucosídicos de los homopolisacáridos; c) receptores bacterianos, que son conocidos como proteínas fijadoras de glucanos y; d) proteínas superficiales de las bacterias, que se unen a través de ellas a la película adquirida.¹⁵

Glucanos libres o formando parte de la capa mucosa, y glucosiltransferasas unidas a las bacterias o excretadas al medio, se adsorben a la película adquirida; sobre los primeros, se fijan otras bacterias con proteínas fijadoras de glucanos, y sobre las segundas, otras rodeadas de glucanos. Sobre las bacterias inicialmente adheridas, otras nuevas lo van haciendo por medio de interconexiones similares, dando origen a microcolonias adherentes en la superficie dental. Si las bacterias disponen de capacidad para unirse directamente a la película adquirida a través de proteínas, y si además, poseen glucanos y glucosiltransferasas, el proceso adhesivo puede iniciarse a partir de aquéllas bacterias, y continuarse luego de la forma descrita previamente (Fig. 9).¹⁵

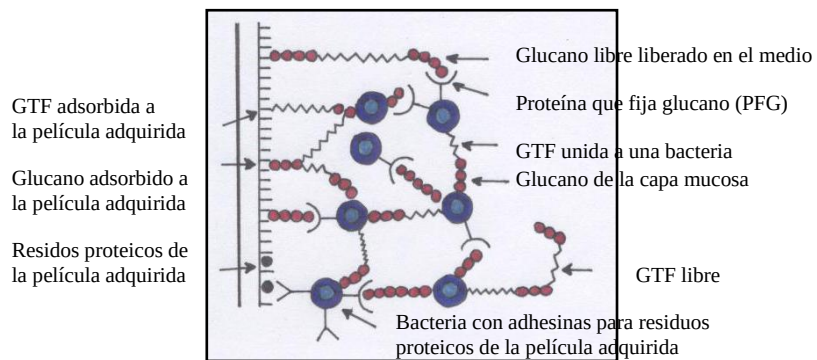


Figura 9: Uniones mediadas por glucanos. Modificada de Taubman, MA, 1991.¹⁵

Parece ser que *S. mutans* se adhiere primariamente a la película adquirida a través de proteínas de la pared, y después se agrega por los sistemas ligados a glucanos. Así, las especies adheridas comienzan a producir polisacáridos extracelulares que, configurando la capa mucosa, rodean varias células y originan microcolonias adherentes. La síntesis de dextranos y fructanos, por otros estreptococos bucales, también contribuye a la formación de microcolonias, pero más con un valor nutricional que adhesivo.¹²

El significado de los estreptococos del grupo mutans en esta etapa de colonización primaria es variable; por un lado, su número puede ser escaso, ya que hay placas no cariogénas; por

otro, aunque inicialmente queden adheridos, para que progresen los fenómenos de adhesión y de agregación deben disponer de sacarosa, y ha de transcurrir cierto tiempo para que el disacárido induzca la formación de glucosiltransferasas y glucanos; finalmente, es posible que la localización puntual de las microcolonias pueda hacer que pasen desapercibidos en los estudios microbiológicos. Otro tanto parece ocurrir con los lactobacilos, cuyo número en esta etapa es insignificante, ya que, aparte de la existencia de placas no cariógenas, al no disponer de poder adhesivo a superficies lisas, ni de coagregación, su presencia tendría que ir ligada a la unión física por atrapamiento en la malla que se está formando, y ésta, en la colonización primaria todavía es muy escasa.¹⁵

14.4. Uniones mediadas por ácidos lipoteicoicos

Los ácidos lipoteicoicos poseen un extremo profundo de ácidos grasos procedente de la capa externa de la membrana citoplasmática (hidrófobo), y otro extremo superficial de glicerol fosfato (hidrófilo). Pueden ser excretados al medio e incluso, al atravesar la pared celular, perder su cola hidrófoba (desacilación). Las interacciones con el hospedero son de dos

tipos (Fig. 10)¹⁵:

1.- Iónicas, por intermedio de cationes del medio que aproximarían grupos fosfatos del extremo hidrófilo y la superficie electronegativa tisular, o bien enlaces entre dichos grupos y el calcio de la película adquirida o de la capa de hidratación. Estos fenómenos parecen suceder cuando se produce la desacilación.

2.- Hidrófobas, cuando la cola hidrófoba es expuesta a superficies hidrófobas de las células, y más raramente de la película adquirida; ello puede ocurrir en tres circunstancias: a) al ser excretados al medio; b) al girar sobre sí mismos, y; c) cuando la bacteria se divide, ya que en ese momento, al ser la pared más fina, es más fácil dicha exposición.

De manera especial, aquellos estreptococos que poseen los ácidos lipoteicoicos pueden unirse a la película adquirida mediante interacciones hidrófobas (extremo hidrófobo de los ácidos lipoteicoicos) o, más frecuentemente, por interacciones iónicas (extremo hidrófilo de los ácidos lipoteicoicos).¹²

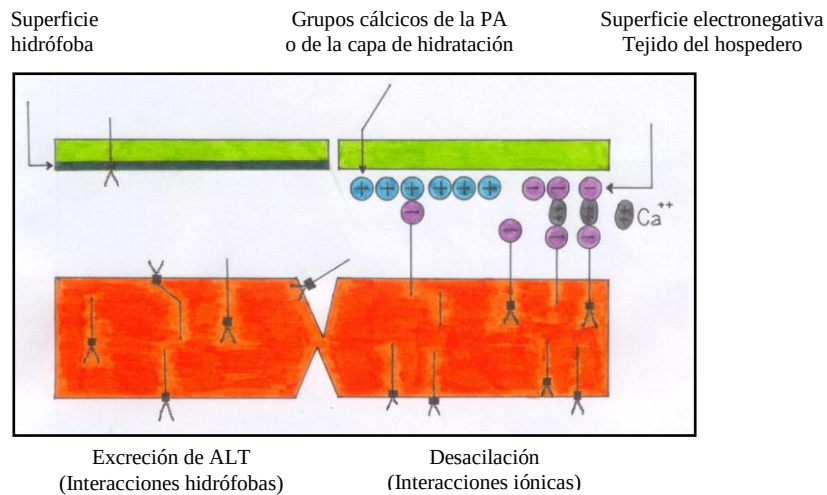


Figura 10: Uniones mediadas por ácidos lipoteicoicos (ALT).

Modificada de Rosan, B, 1994.¹⁵

14.5. Adhesión a células epiteliales

Salvo las uniones mediadas por glucanos propias de superficies lisas y duras, los otros tipos justifican la adhesión a superficies epiteliales. En la cavidad bucal hay que resaltar el importante papel de la fibronectina utilizada como receptora de algunas bacterias Gram-positivas; la pérdida de la misma (por ej., por una importante actividad proteolítica salival o una menor secreción), deja libre receptores celulares, lo que facilita la colonización de bacterias no habituales (por ej.,

Enterobacteriaceae).¹⁵

14.6. Unión física por atrapamiento

No es una verdadera adhesión, coagregación ni agregación; se trata simplemente de un atrapamiento físico en zonas retentivas (por ej., superficies oclusales y proximales de los dientes), o en la malla bacteriana que se forma por otros mecanismos.¹⁵

Igualmente, este fenómeno puede ocurrir alrededor de prótesis y aparatología ortodóncica, en lesiones cariosas, en el surco gingival o sacos periodontales. En otros casos, este atrapamiento se produce en la malla microbiana que se desarrolla en el curso de la formación de placas, sin que estos microorganismos que se ven atrapados dispongan de mecanismos propios para adherirse. Tanto en una circunstancia como otra, si existen unas condiciones óptimas para el desarrollo microbiano, estos fenómenos pueden desempeñar un importante papel patogénico; es el caso de la génesis de lesiones cariosas en zonas de retención, o la proliferación de bacterias

periodontopatógenas en las porciones de la placa subgingival no adherida.¹⁶

15. FACTORES DE ADHESIÓN, AGREGACIÓN Y COAGREGACIÓN

La cavidad bucal es un ecosistema abierto en el que constantemente se está produciendo el ingreso de microorganismos asociados a los alimentos sólidos o líquidos que se ingieren, o que son aspirados del ambiente que nos rodea. Por el contrario, el flujo salival, la masticación, la deglución, la higiene bucal y la descamación de células epiteliales son fenómenos que sirven para eliminar las bacterias de las superficies bucales.¹⁶

Cuando hablamos de adhesión, agregación o coagregación, cualquiera de estos tres procesos son claros determinantes ecológicos que contribuyen a un cierto grado de especificidad y diversidad bacteriana en algunos ecosistemas primarios bucales, a la formación de placas y al desarrollo de enfermedades.¹⁶

Los modelos más importantes en la cavidad bucal son, sin lugar a dudas, los ligados a glucanos, a los ácidos lipoteicoicos, a las uniones proteína-proteína para la adhesión, y lectina-carbohidrato, para cualquiera de los tres procesos que se están analizando; de la misma manera, es elevada la frecuencia con que, debido a que en la saliva existen grandes cantidades de glucoproteínas e iones cálcicos, éstos actúan como intermediarios de la adhesión. Por parte bacteriana, intervienen como adhesinas especialmente las fimbrias, los glucanos y los ácidos lipoteicoicos, y como receptores para la agregación y coagregación, aparte de los que implican a los glucanos, los carbohidratos y proteínas superficiales.¹⁶

El fenómeno coagregativo es muy frecuente en la cavidad bucal, y tiene gran significación ecológica y patológica, ya que es, en buena medida, el responsable de la formación de placas dentales y de las típicas imágenes en mazorcas de maíz, pilosas y mixtas en las mismas.¹⁶

Mención aparte merecen los receptores tisulares en los procesos de adhesión. Éstos se encuentran en las superficies dentales (esmalte, dentina o cemento), a través de la película

adquirida y superficies epiteliales. En el primer caso, al no producirse descamación, la adherencia es estable, las bacterias fijadas se multiplican y se favorece la formación de una biopelícula y, en definitiva, de una placa. En el segundo caso, debido a la descamación de las células más superficiales, la adhesión es inestable y sólo se producirá una acumulación bacteriana en forma de monocapa.¹⁶

En la adhesión que se produce en la cavidad bucal desempeñan un papel importante, las proteínas y glucoproteínas salivales; por un lado, son intermediarias del proceso adhesivo (si están cargadas electronegativamente actuarían, por medio de cationes, como nexo de unión entre dos superficies); y por otro, serían auténticos receptores para adhesinas bacterianas; es el caso de las mucinas, estaterinas, proteínas ricas en prolina, histatinas, cistatinas, α -amilasa y fibronectina.¹⁶

Las mucinas son de dos tipos: MG1 y MG2 de alto y bajo peso molecular respectivamente. Tanto una como otras, tienen en los extremos de sus cadenas hidrocarbonadas, ácido siálico o N-acetilneuramínico (NANA).¹⁶

Las MG1 se adsorben a la hidroxiapatita formando parte de la película adquirida, y recubren superficies celulares bloqueando receptores para la adhesión de algunas bacterias no frecuentes en la cavidad bucal; sin embargo, otras poseen adhesinas que se unen al ácido siálico (por ej., *S. sanguis* y *S. mitis*), lo que facilita la colonización de dichas superficies; además, determinadas neuraminidasas separan o hidrolizan el ácido siálico, con lo que, aparte de precipitar por insolubilización la mucina, aparecen nuevos receptores (especialmente residuos de galactosa) que serán reconocidos por otras bacterias que, mediante uniones lectina-carbohidrato, se adhieren de manera especial a la película adquirida.¹⁶

Las MG2 también poseen receptores para numerosas bacterias bucales (por ej., *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, *Streptococcus gordonii* y otras), extraorales (por ej., *Pseudomonas aeruginosa*), poco frecuentes en la boca, o *Staphylococcus aureus* e incluso virus; de esta forma se bloquean sus adhesinas para unirse a las superficies bucales y, al aglutinarse en torno a las mucinas (aglutininas salivales) se facilita su paso al aparato digestivo.¹⁶

Otras glucoproteínas, como las estaterinas, proteínas ricas en prolina, histatinas y cistatinas, y enzimas como la α -amilasa también se adsorben sobre la hidroxiapatita para formar parte de la película adquirida. La fibronectina es una glucoproteína salival presente en la cavidad bucal que, recubriendo células epiteliales, posee receptores para muchas bacterias residentes en esta zona (por ej., estreptococos); al mismo tiempo recubre algunos, imposibilitando la adhesión de otras poco frecuentes en la boca, y su pérdida por proteasas salivales o por lesiones tisulares (por ej., radioterapia o agentes citotóxicos) los deja libres y favorece la colonización por bacterias extraorales.¹⁶

Un compuesto sobre el que también se adhieren bacterias bucales es el colágeno, en particular al tipo IV. Se han demostrado estas uniones en *S. sanguis*, *Streptococcus cricetus*, *Porphyromonas gingivalis* y otros microorganismos. Parece ser que el receptor se encuentra en las cadenas α del colágeno (curiosamente semejante a segmentos carboxiloterminales de la película adquirida), de esta manera, se puede explicar, entre otras causas, la fijación de bacterias de procedencia bucal en las válvulas cardíacas y el avance de los microorganismos en las lesiones de caries y a través de los tejidos periodontales.¹⁶

16. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LAS PLACAS DENTALES

Como las enfermedades de la cavidad bucal con mayor prevalencia (caries, gingivitis y periodontitis), así como sus complicaciones, tienen su origen en la existencia de una placa previa, se han hecho importantes estudios para encontrar la forma de prevenirlas y eliminarlas. Los distintos métodos que pueden utilizarse se clasifican en tres grupos: antimicrobianos, bloqueantes de la adhesión y eliminación mecánica.¹²

16.1. Antimicrobianos

16.1.1. Condiciones del fármaco

Aunque es difícil que exista alguno que reúna todas y cada una de las características que se citan a continuación, al menos habrá que intentar que cumplan la mayoría de ellas: a) tener cierto grado de especificidad por los microorganismos de la placa; b) penetrar en la placa y poseer substantividad, es decir, que queden retenidos en el medio bucal durante cierto tiempo y, siendo estables y activos, se liberen de forma progresiva; c) ser bactericidas para evitar fenómenos de resistencia; d) en caso de

ingestión no deben alterar la microbiota intestinal normal del hospedero; e) no tener efecto tóxico, alérgico o irritante para el receptor; f) no deben emplearse sustancias que puedan ser útiles en enfermedades más graves; g) tener un sabor agradable; h) su costo debe ser bajo y de fácil producción; i) vida media adecuada, que permita su almacenamiento.¹²

16.1.2. Formas de aplicación

Aunque puede usarse la vía bucal o general, la más utilizada es la tópica o local. Para el control de las placas supragingivales y radiculares están contenidos en dentífricos, geles, barnices, colutorios, atomizadores, irrigadores, chiclets, microcápsulas con liberación lenta, etc.¹²

16.1.3. Principales fármacos utilizables

16.1.3.1. Antibióticos

No tiene sentido su uso en el control de las placas, habiendo otros compuestos más eficaces. Así, habría que hacer un tratamiento continuo, ya que sólo serían útiles mientras se están

administrando, el costo de su empleo sería extremadamente elevado y las condiciones de la biopelícula que supone las placas dificultaría su penetración en ellas; además, plantearían problemas de sensibilización del hospedero, variedad de efectos secundarios y el ir creando de forma progresiva un mundo bacteriano plagado de cepas resistentes. Sólo la actinobolina, un antibiótico que inhibe la síntesis proteica y que no tiene uso en clínica humana, podría emplearse por su actividad muy específica sobre estreptococos; ello, sin embargo, no lo exime de los otros muchos problemas que su uso indiscriminado ocasionaría.¹²

16.1.3.2. Antisépticos: bisguanidas

El más utilizado es la clorhexidina, y menos la alexidina, hexidecina, heptotodina y heptihexidina. La clorhexidina tiene un amplio espectro de actividad frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas; especialmente eficaz se muestra frente a estreptococos del grupo mutans, *Streptococcus salivarius*, *Selenomonas* spp. y *Propionibacterium* spp.; sin embargo, su acción sobre los hongos es relativa y no es esporicida, ni viricida, ni activa sobre bacterias ácido-alcohol resistentes. En

concentraciones elevadas suele ser bactericida, y en concentraciones bajas, bacteriostática. En su mecanismo de acción es preciso destacar varios efectos importantes:

- Actividad antiadhesiva a superficies epiteliales y dentales. La unión electrostática entre la molécula catiónica de la clorhexidina y los grupos ácidos aniónicos de las proteínas determina la pérdida de la electronegatividad, por ejemplo, de la película adquirida, la interferencia en la adhesión mediada por cationes divalentes y la atracción de los microorganismos sobre los nuevos complejos formados.¹²

- Actividad antimicrobiana, al ser atraídos los microorganismos a la molécula de clorhexidina, ésta aporta cargas electropositivas que modifican el funcionamiento normal de la membrana citoplasmática, altera su permeabilidad y provoca la lisis celular.¹²

- Otras actividades. Entre ellas destacan la interferencia en el sistema de transporte fosfoenolpiruvato-fosfotransferasa, disminuyendo la producción de ácidos por los estreptococos, la

inhibición de la captación y del catabolismo de algunos aminoácidos por *S. sanguis* y el bloqueo de la actividad de algunas proteasas de *P. gingivalis* cuyo substrato específico sea la arginina.¹²

La clorhexidina de uso bucal se emplea al 0,2 y 0,12%. Presenta substantividad con retención y lenta eliminación, de tal manera que unas horas después de su administración sigue habiendo en la saliva concentraciones bacteriostáticas. Entre sus efectos adversos destacan su sabor desagradable y la pigmentación de los dientes y los tejidos blandos (especialmente el dorso lingual). Su uso prolongado altera la percepción del gusto por los alimentos dulces y puede seleccionar cepas resistentes.¹²

16.1.3.3. Otros antisépticos

Con diferentes resultados se han empleado diversos compuestos entre los que se señalan a continuación ¹²:

- Sales de metales pesados que ejercen una acción fundamentalmente oxidante; es el caso del citrato de zinc, sulfato de cobre y fluoruro de estaño.
- Otros agentes oxidantes, como agua oxigenada, perborato, yodo (por ej., polividona yodada), y flúor.
- Derivados del amonio cuaternario, como cloruro de cetilpiridinio, cloruro de benzalconio o cloruro de zefirán. Actúan como agentes tensoactivos y aportan cargas electropositivas (derivan del ión amonio cuaternario NH_4^+) alterando la permeabilidad de las membranas.
- Otros compuestos catiónicos, como los derivados pirimidínicos (por ej., hexetidina), y derivados bispiridínicos (por ej., clorhidrato de octenidina y pirtenidina).
- Detergentes aniónicos, que se comportan también como agentes tensoactivos, pero su carácter aniónico les hace ser menos eficaces que los derivados del amonio cuaternario.
- Derivados fenólicos como el timol y triclosan que, entre otros efectos, actúan rompiendo membranas citoplásmicas y desnaturalizando e inactivando enzimas.

16.1.3.4. Fluoruros

Su uso en odontoestomatología está ligado a su capacidad para disminuir la solubilidad del esmalte y el cemento (formación de cristales de fluorapatita más resistentes a las disminuciones del pH), y a su acción remineralizante, más que a su efecto antiplaca y antibacteriano. De igual manera, el flúor por vía tópica puede considerarse como un agente de segundo orden que tiene estas dos actividades ¹²:

1. Al menos teóricamente en su forma iónica (F^-), disminuye la superficie de la película adquirida disponible para la adhesión microbiana, ya que al reaccionar con los iones Ca^{2+} interferiría las uniones mediadas por estos cationes.
2. La acción antibacteriana del flúor en sentido estricto depende del pH, de tal forma que a pH ácido, la forma ionizada (F^-) se combina con iones H^+ del medio formando FH. De esta manera ingresa en el interior celular volviéndose a disociar en F^- y H^+ en el citoplasma. El ión F^- actúa inhibiendo la enzima enolasa de la vía glucolítica que cataliza la conversión de 2-fosfoglicerato en

fosfoenolpiruvato. Las consecuencias serían, un déficit de fosfoenolpiruvato, de piruvato y de lactato, un bloqueo del sistema fosfoenolpiruvato-fosfotransferasa para el ingreso de azúcar, y una disminución del ATP necesario para el buen funcionamiento del sistema de transporte asociado a un gradiente de protones, hecho que se potencia, ya que el F^- inhibe la ATPasa. Por otra parte, los iones H^+ aumentan intracelularmente, por la disociación del FH, y porque la bomba de protones deja de expelerlos al exterior; el resultado es una disminución del pH, lo que provoca una sensible alteración de numerosas enzimas; se llega de esta forma a una situación que hace incompatible la vida microbiana.

16.1.3.5. Activadores de la lactoperoxidasa

Enzimas como la glucosa oxidasa, incluídas en diversos preparados como dentífricos pueden, en presencia de glucosa, producir peróxido de hidrógeno que es indispensable para la formación de hipotiocianato por oxidación del tiocianato salival, a través de la lactoperoxidasa; recordando que el hipotiocianato tiene actividad antibacteriana.¹²

16.1.3.6. Bacteriocinas

Su uso no ha tenido la eficacia que de ellas se esperaba. Entre sus principales inconvenientes destacan: a) la complejidad de la microbiota bucal, que obligaría al uso de multitud de estos compuestos; b) los cambios de la microbiota de un sujeto a lo largo del día, y c) su difícil forma de aplicación para evitar su desnaturalización por proteasas.¹²

16.1.3.7. Fosfatos

Su acción beneficiosa sobre el esmalte y el cemento impiden el descenso del pH de la placa, proporcionando compuestos a las bacterias, economizándolos de los tejidos y, además, al reaccionar con lípidos o proteínas superficiales bloquean mecanismos de agregación y coagregación.¹²

16.1.3.8. Otros productos

Se han usado: a) aceites esenciales como timol y eucaliptol;

así, Listerine® es un agente anti-placa que contiene estos dos compuestos, además de salicilato de metilo y metanol en solución hidroalcohólica; b) extractos de plantas como la sanguinarina, que altera la superficie celular bacteriana; c) taninos, que inhiben la vía glucolítica y la actividad de las glucosiltransferasas; d) el xilitol, que es captado por algunas cepas de estreptococos del grupo mutans por el sistema xilitol-fosfotransferasa, pero al no poderlo metabolizar lo acumulan en forma de xilitol-5 fosfato que inhibe la glucólisis normal y supone un desperdicio de energía para la célula, que afecta indirectamente a su crecimiento, y e) determinados compuestos, como pirofosfatos que inhiben los procesos de mineralización.¹²

16.2. Bloqueantes de la adhesión

Además del flúor y la clorhexidina que, como se ha señalado, interfieren el proceso adhesivo, para tal fin se han probado los siguientes procedimientos, todos ellos dirigidos a evitar la colonización de estreptococos del grupo mutans: a) sustitución de la microbiota adhesiva por otra que no lo sea, o ejerza un efecto antagónico sobre la primera; en este sentido se han probado bacterias diferentes de estreptococos del grupo mutans

y cepas de *S. mutans* mutantes, que por ingeniería genética carezcan de dicho poder, o sean capaces de producir enzimas degradantes de polisacáridos extracelulares; no hay, sin embargo, estudios *in vivo* que avalen su eficacia sin riesgo para el hospedero; b) vacunas, se han desarrollado utilizando antígenos como las células de estreptococos del grupo mutans, proteínas parietales y las glucosiltransferasas; existen problemas en cuanto a la vía de administración, eficacia a corto y largo plazo y, sobre todo, con respecto a su inocuidad; c) inmunización pasiva, el empleo de anticuerpos monoclonales aplicados por vía tópica, o anticuerpos de plantas transgénicas, tampoco parecen útiles desde el punto de vista práctico; d) preparados enzimáticos, es el caso de las dextranasas o invertasas que, respectivamente, hidrolizan dextranos o escinden la sacarosa antes de ser asimilada por las bacterias; los resultados son hasta el momento desalentadores; e) modificaciones de la superficie dentaria, así, se han usado con una eficacia discutible, octapinol, polivinil-fosfónico o perfluoralquil; f) sustitutos de la sacarosa que evitarían la génesis de elementos estructurales adhesivos como la capa mucosa; y g) selladores de fisuras que previenen la placa en las principales zonas de estancamiento; el método más utilizado es el proceso de grabado ácido del esmalte, sellado con resina y polimerización química o fotopolimerización; de esta

forma la fisura se protege de la colonización microbiana y las bacterias que puedan quedar debajo del sellado se inactivan al bloquearse la llegada de nutrientes; se trata de un procedimiento muy útil en la población infantil, una de las de más alto riesgo de caries.¹²

16.3. Eliminación mecánica de la placa

Se trata de un método idóneo para su eliminación. El cepillado con un dentífrico adecuado y al menos dos veces al día elimina gran parte de la placa de las superficies accesibles de la corona del diente. Hay además, técnicas de cepillado que controlan la placa subgingival. En la higiene bucal diaria, es importante incluir el hilo dental para eliminar la placa proximal. Otros medios de eliminación de placa son los cepillos interproximales y las cuñas de madera. En la consulta, el odontólogo será el encargado de eliminar el cálculo mediante instrumentos de uso manual y ultrasonidos; la placa dental podrá eliminarse con instrumental rotatorio a baja velocidad mediante cepillos de profilaxis y conos de goma, que se pueden combinar con pastas abrasivas para conseguir un pulido dentario.¹²

Para motivar al paciente e inducirlo a la higiene bucal, es útil el empleo de reveladores de placa, que son compuestos que tiñen las placas sin ningún tipo de efecto secundario; no quedan retenidos de forma prolongada, carecen de toxicidad, tienen sabor agradable y son de fácil conservación sin que se deterioren.¹²

17. DESCRIPCIÓN DE ARTÍCULOS

Numerosos autores han dedicado tiempo de estudio para evaluar la acción de distintos agentes, tanto en el control de la placa dental, así como su influencia en las propiedades de las bacterias bucales, principalmente *Streptococcus mutans*. Igualmente, han sido investigados minuciosamente los efectos anticariogénicos de diversas sustancias, para el control de la enfermedad.

K.K. Mäkinen y col., (2001)¹⁷, realizan un estudio comparativo entre unas pastillas estimulantes de saliva que contienen eritritol y xilitol, para el control de placa dental y *Streptococcus mutans*. Muchos estudios durante los pasados 30 años han sugerido que

el uso del xilitol puede mejorar el estado de higiene bucal y reducir la caries [Mäkinen, 1993; Birkhed, 1994; Tanzer, 1995; Trahan, 1995: Citado por K.K. Mäkinen y col., (2001)]. El cumplimiento de cada estudio comparativo será considerado necesario, debido a la homología estructural tan cerrada entre las moléculas de xilitol y eritritol: el xilitol es un alcohol azúcar de tipo pentitol, el cual no promueve el crecimiento de la flora cariogénica bucal; mientras que el eritritol, es un alcohol azúcar de tipo tetritol, que puede ser considerado refractario de la descomposición biológica de los organismos cariogénicos. Este estudio tiene el objetivo de investigar el efecto durante dos meses usando estimulantes de saliva que contienen eritritol y xilitol, en personas con algunos parámetros asociados a caries. El número de sujetos fue de 30 pacientes del Centro de Salud Pública de la población de Pello en el norte de Finlandia. Fueron incluidos 16 sujetos con varios grados de retardo mental o limitación física, que incluía una miopatía, un paciente con síndrome de Sjögren, y el resto eran mentalmente retardados, generalmente como resultado de síndrome de Down. Los 14 sujetos restantes eran sanos. El rango de edad oscilaba entre 30.3 ± 17.1 años. Los estimulantes de saliva utilizados en este estudio fueron goma de mascar, que contenían 39.5% de alcohol azúcar (eritritol y/o xilitol), 59.0% de polidextrosa y aroma de

menta. Antes de iniciar el estudio, los sujetos se restringieron de higiene bucal por 48 horas. Una vez realizados los tests correspondientes; además, de los métodos standard de laboratorio necesarios para culminar el estudio, los resultados demostraron que durante dos meses usando sistemáticamente estimulantes de saliva que contienen xilitol, fue más efectivo que el uso correspondiente de estimulantes con eritritol, en la reducción del crecimiento de la placa dental, *S. mutans* y los contenidos salivales. Cada uno de los efectos incluyen el crecimiento reducido de las bacterias en presencia de xilitol, así como efectos químicos específicos, los que debilitan la adhesividad de las bacterias a las superficies, aumentando el grado de actividad proteolítica de la bacteria y debilitando el potencial acidogénico del azúcar. El crecimiento de *S. sobrinus* no fue afectado por el xilitol, pero si ejerce efectos específicos sobre *S. mutans*.¹⁷

S. Shani y col., (2000)¹⁸, evaluaron el efecto anticariogénico de los fluoruros de amina sobre *Streptococcus sobrinus* y glucosiltransferasa en un biofilm de placa dental experimental. La placa dental consiste en bacterias cariogénicas, tales como *Streptococcus mutans*, las cuales producen enzimas

extracelulares como glucosiltransferasas y fructosiltransferasas [Liljemark y Bloomquist, 1996: Citado por S. Shani y col., (2000)]. Actualmente, se han diseñado agentes antimicrobianos para el tratamiento de las enfermedades infecciosas bucales, con metodología apropiada para la bacteria plantónica (por ej., determinación del mínimo inhibitorio/concentración bactericida de un agente). Los fluoruros de amina que son conocidos como agentes anticaries, tienen una actividad antibacterial significativa contra la bacteria cariogénica [Cahen y col., 1982; Schmid y col., 1984; Rosín y Lincir, 1995: Citado por S. Shani y col., (2000)]. La molécula de fluoruro de amina consiste en dos grupos funcionales: el grupo orgánico amina, el cual es un agente con una superficie catiónica activa; y el ion fluoruro, que es conocido por sus propiedades anticaries.¹⁸

En el modelo de placa dental experimental, los agentes activos fueron el fluoruro de amina (AmF) 335, cloruro de amina (AmCl) 335, fluoruro de sodio (NaF) y el digluconato de clorhexidina. Entre las condiciones de crecimiento bacterial, la bacteria utilizada para este estudio fue *Streptococcus sobrinus* 6715. Las muestras de saliva recibidas eran de donantes que no habían recibido medicación durante tres meses antes del estudio,

y sin enfermedad periodontal o caries activa. Las muestras de hidroxiapatita cubiertas por saliva humana fueron preparadas por los métodos de laboratorio correspondientes.¹⁸

Los resultados demostraron que la viabilidad de *Streptococcus sobrinus* en el biofilm, disminuyó por el aumento de la concentración del fluoruro de amina y la clorhexidina. La concentración de fluoruro de amina y clorhexidina requerida para inhibir la adherencia de *S. sobrinus* a las muestras de hidroxiapatita cubiertas por saliva humana, fue alrededor de 100 veces más, que la concentración requerida para destruir la misma cantidad de bacteria plantónica. La adsorción del fluoruro de amina a las superficies fue más del 90% y la desorción en el modelo experimental fue limitada. Las glucosiltransferasas juegan un papel importante en la adhesión bacteriana y su acumulación en la superficie dentaria [Rølla y col., 1985, Schilling y col., 1989: Citado por S. Shani y col., (2000)]. El fluoruro y el cloruro de amina tienen un efecto inhibitorio en la actividad de la glucosiltransferasa en solución, mientras que el fluoruro de sodio no tiene tal efecto. La actividad de la glucosiltransferasa en solución aumentó escasamente con bajas concentraciones de fluoruro y cloruro de amina, mientras que

altas concentraciones de estos agentes provocó una inhibición importante de la producción de glucanos. Los resultados demuestran los efectos anticariogénicos exhibidos del fluoruro de amina en la bacteria y sus enzimas, tanto en solución, como en la superficie dental.¹⁸

M. Tanagawa y col., (1999)¹⁹, estudiaron el efecto inhibitorio de tres tipos de resina compuesta con actividad antibacterial contra *Streptococcus mutans*. Aunque diferentes especies de bacterias pueden ser aisladas de la placa dental asociada con lesiones de caries, existe evidencia de que *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Lactobacillus*, son los principales patógenos a nivel dental [Loesche, 1986: Citado por M. Tanagawa y col., (1999)]. Las restauraciones de resina compuesta tienden a acumular mayor cantidad de bacterias y placa dental que otros materiales de restauración *in vitro* [Skjörland, 1973, 1976: Citado por M. Tanagawa y col., (1999)], e *in vivo* [Weitman y Eames, 1975; Skjörland y Sönju, 1982; Svanberg y col., 1990b: Citado por M. Tanagawa y col., (1999)], resultando en caries de recidiva alrededor de la restauración [Kroeze, 1985; Major, 1985; van Dijken, 1986: Citado por M. Tanagawa y col., (1999)]. Por otro lado, la caries difícilmente

aparece adyacente a las restauraciones de vidrio ionomérico [Wilson y McLean, 1998; van Dijken y col., 1991; Mjör, 1996; van Dijken y col., 1997: Citado por M. Tanagawa y col., (1999)]. [Svanberg y col., 1990a: Citado por M. Tanagawa y col., (1999)], demostraron *in vivo* que el crecimiento de estreptococos a nivel bucal fue inhibido alrededor de los cementos de vidrio ionomérico que contenían plata. Esto es debido, a los iones de fluoruro o plata liberados del material, o el efecto combinado de ambos iones [Opperman y Johansen, 1980; Forsten, 1990: Citado por M. Tanagawa y col., (1999)]. El uso de la plata en medicina tiene una amplia historia como agente antimicrobiano [Hill y Pillsbury, 1939: Citado por M. Tanagawa y col., (1999)]. Las resinas compuestas que contienen iones de plata implantados en su relleno, pueden tener efectos antibacteriales en los estreptococos bucales [Yamamoto y col., 1996: Citado por M. Tanagawa y col., (1999)]. En este estudio, fue evaluada la actividad contra *S. mutans* de tres tipos de resinas compuestas fotocuradas, con la incorporación de plata como material antibacterial, las cuales tenían la siguiente denominación: Novaron AG300, Amenitop y AIS-NAZ310.¹⁹

Fue determinada la cantidad mínima inhibitoria en suspensión

de los materiales Novaron, Amenitop y AIS-NAZ310 contra *S. mutans*, siendo 40, 30 y 400 µg/ml, respectivamente. Los resultados indican, que la resina compuesta fotocurada que contenía material antibacterial de plata, la cual es Novaron, fue clínicamente útil, debido al efecto inhibitorio contra *S. mutans* y sus propiedades mecánicas favorables. Sin embargo, nuevos estudios para aclarar el mecanismo de la actividad de los materiales antibacteriales que contienen plata están actualmente en proceso, además de investigar sus actividades contra otros estreptococos bucales y especies con un papel importante en la formación de la placa dental, tales como *Actinomyces*, *Neisseria* y *Veillonella*.¹⁹

E. Giertsen y col., (1999)²⁰, analizaron los efectos de enjuagues bucales con xilitol y fluoruro en la placa dental y saliva. El objetivo de este estudio fue evaluar la hipótesis del xilitol, sólo y en combinación con fluoruro, su influencia en la velocidad de flujo salival y la microbiota, acumulación de placa dental, desarrollo de gingivitis, y el potencial acidogénico de la placa. Tres grupos, cada uno de 10 sujetos (21 mujeres y 9 hombres entre 19 y 28 años), usaban el enjuague durante 1 minuto, tres veces diarias en dos períodos de cuatro semanas,

primero con 10 ml. de agua (control), y seguidamente con 0.05% de NaF (fluoruro de sodio), 40% de xilitol, o con 0.025% de NaF plus. Ellos realizaron el cepillado dentario mecánico habitual durante las primeras dos semanas de cada período, pero se abstuvieron de la limpieza interdental durante las últimas dos semanas. Mientras el enjuague bucal fue ininterrumpido, la higiene bucal mecánica fue suspendida los últimos dos días de cada período para permitir la acumulación de la placa. El último enjuague bucal fue administrado en la clínica antes de la evaluación final. Los siguientes parámetros fueron examinados: (1) velocidad de secreción salival no estimulada y estimulada con parafina; (2) microbiota salival; (3) índice de placa; (4) inflamación papilar; (5) pH de la placa en respuesta al azúcar, y (6) formación de lactato por la placa dental. Estadísticamente, no hubo diferencias significativas en ninguno de los parámetros evaluados. En conclusión, tres enjuagues bucales diarios con fluoruro y xilitol, separadamente o en combinación, no afectan la velocidad de flujo salival, la microbiota salival, la acumulación de placa dental, el desarrollo de gingivitis, ni el potencial acidogénico de la placa dental.²⁰

S. Twetman y L. G. Petersson (1998)²¹, diseñaron un estudio

comparativo que evaluaba la eficacia de tres preparaciones diferentes de clorhexidina en la disminución de los niveles de *Streptococcus mutans* en saliva y en placa interproximal. Noventa y tres niños escolares sanos entre 8 y 10 años de edad, con altos niveles de *S. mutans* en saliva, fueron seleccionados bajo un procedimiento minucioso y ubicados al azar en tres grupos equilibrados. Las muestras de *Streptococcus mutans* fueron tomados de la zona interproximal mesial de los primeros molares permanentes. Los pacientes fueron tratados tres veces durante dos semanas con los tres tipos de preparaciones: barniz al 1% que contiene clorhexidina/timol (grupo A), clorhexidina en gel al 1% (grupo B), y aquellos que fueron supervisados diariamente en el cepillado con un dentífrico de clorhexidina al 0.4%, durante un mes (grupo C). Las muestras de saliva y placa interproximal fueron recogidas de 1 a 3 meses después de terminado el tratamiento. Estadísticamente, hubo una reducción significativa de los niveles de *S. mutans* en saliva y placa interproximal en todos los grupos después de 1 mes. El dentífrico que contiene clorhexidina (grupo C), fue el método más efectivo en la reducción de los niveles de *S. mutans* en saliva. En la placa interproximal, la disminución de *S. mutans* fue menos marcada que en saliva. Los resultados sugieren que la colonización de *Streptococcus mutans* en placa interproximal fue

más difícil de combatir, mientras que los niveles salivales fueron fácilmente afectados.²¹

Baehni y Takeuchi (2003)²², realizaron un estudio referido a la acción de los agentes anti-placa en la prevención del biofilm asociado a las enfermedades bucales.

La microflora bucal residente consiste en una gran diversidad de microorganismos, que incluyen virus, bacterias, hongos, micoplasmas, y en algunas ocasiones, protozoarios. La bacteria representa el componente predominante de la microflora bucal y puede incluir desde 300-350 especies diferentes [Socransky y Haffajee, 1992: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)]. Trabajos más recientes, usando una tecnología con la reacción de la cadena de polimerasa, han determinado que el número estimado puede incluir más de 500 especies [Paster y col., 2001: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)].²²

El uso de agentes antimicrobianos para prevenir las enfermedades bucales ha sido bien conocido por años [Mandel, 1988: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)]. Actualmente, el

agente antimicrobiano más efectivo para el control de la placa dental ha sido la clorhexidina.²²

Las moléculas de clorhexidina inicialmente son adsorbidas en la superficie del esmalte o en la película adquirida para que la adhesión bacterial sea inhibida [Rölla y Melsen, 1975; Prattten y col., 1998: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)]. La clorhexidina también es conocida como bacteriostática contra muchas bacterias bucales [Stanley y col., 1989: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)]. En un modelo de biofilm supragingival, la clorhexidina ha mostrado que puede inhibir el crecimiento bacteriano y la formación de la biopelícula [Guggenheim y col., 2001; Shapiro y col., 2002: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)]. A altas concentraciones el agente es bactericida y actúa como un detergente para destruir la membrana de la célula bacteriana [Meurman, 1988: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)].²²

[Rundegren y col., 1992, y Steinberg y col., 1992: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)], han demostrado, que el hidrócloro del mofinol tiene el potencial para interactuar con los constituyentes de la película y para inhibir la síntesis de glucanos por *Streptococcus mutans*. También se ha demostrado

su efecto en la prevención de la formación de la placa, y en la disolución de la placa existente *in vitro* [Simonsson y col., 1991: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)].²²

Existe evidencia de que el fluoruro puede interferir con la actividad enzimática y reducir la producción de ácido por las bacterias bucales [Hamilton, 1990: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)]. Estudios sugieren que el fluoruro también tiene propiedades anti-placa, sin embargo, los mecanismos no están muy claros.²²

[Guggenheim y col., 2001; Shapiro y col., 2002: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)], utilizando un modelo de biofilm de placa supragingival *in vitro*, reportaron que el triclosán reducía la carga microbiana total. Diversos experimentos clínicos han demostrado que las pastas dentales que contienen triclosán y citrato de zinc, reducen significativamente la placa y la gingivitis [Stephen y col., 1990; Svatun y col., 1993: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)]. Estudios más recientes han confirmado el efecto inhibitorio del triclosán en el desarrollo de la placa dental [Jenkins y col., 1994; Renton-Harper y col., 1996: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)]. La combinación de fluoruro de amina

y triclosán ha mostrado que tiene propiedades antibacteriales y en la reducción de la placa [Arweiler y col., 2002: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)].²²

Conceptualmente, los agentes anti-placa pueden ser usados: a) para interferir con la adhesión de la bacteria bucal a las superficies, y prevenir la formación del biofilm, b) para interferir con los mecanismos de coagregación, o c) para remover o interrumpir los biofilms existentes.²²

M. Matsumoto y col., (1999)²³, evaluaron los efectos inhibitorios del extracto de te Oolong en las propiedades de *Streptococcus mutans* para inducir la caries dental. Se demostró que el extracto de te Oolong redujo *in vitro* la cantidad de producción de ácidos por *S. mutans*, acompañado con el retardo en la velocidad de crecimiento de dicha bacteria, mientras que el polifenol de te Oolong aislado cromatográficamente fue débil. Igualmente, ambos productos de te Oolong disminuyeron la hidrofobicidad de la superficie celular de casi todos los estreptococos bucales examinados en el presente estudio, y también indujeron la agregación celular de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis* o

Streptococcus gordonii. Los productos del té mencionados inhibieron la adherencia de *Streptococcus mutans* a la película adquirida presente en la hidroxiapatita.²³

La hidrofobicidad de la superficie celular es uno de los principales factores para que la bacteria bucal pueda adherirse a la superficie dentaria [Weiss y col., 1982: Citado por M. Matsumoto y col., (1999)].²³

Streptococcus mutans ha sido implicado como el agente causal primario de la caries dental en humanos y animales experimentales [Hamada y col., 1984: Citado por M. Matsumoto y col., (1999)]. Esta bacteria es la primera que se adsorbe a la película adquirida formada en la superficie del esmalte con proteínas salivales por medio de la acción hidrofóbica. Luego, los microorganismos sintetizan glucanos adherentes e insolubles en agua a partir de la sacarosa por la acción de las glucosiltransferasas.²³

En estudios previos, se demostró que el extracto de té Oolong posee una fuerte actividad anti-glucosiltransferasa

originada en los polifenoles poliméricos que quedan en el te Oolong [Nakahara y col., 1993: Citado por M. Matsumoto y col., (1999)]. Además, el extracto de te Oolong, ha demostrado que reduce la deposición de placa dental en humanos [Ooshima y col., 1994: Citado por M. Matsumoto y col., (1999)].

J. Yang y col., (2001)²⁴, realizaron un estudio comparativo para evaluar la coadhesión y remoción de la bacteria adherente a la película salival, por medio de tres diferentes modelos de cepillado que incluía el cepillado manual, el cepillado con ultrasonido y el cepillado eléctrico; en presencia o ausencia de lactosa y fluoruro. Las bacterias involucradas fueron *Actinomyces* y *Streptococcus*. La lactosa es un conocido inhibidor de interespecies, tales como, *A. naeslundii* y *Streptococcus oralis* 34, mientras que los iones de calcio son un prerrequisito para las cepas de bacterias bucales. Esto sugiere, que el fluoruro no sólo previene la caries dental, por medio de su influencia en la remineralización del esmalte, sino que también podría disolver los puentes de calcio entre la coadhesión de la bacteria, y de esa manera estimular la remoción de la placa dental.²⁴

Los resultados de este estudio arrojaron que el cepillado manual fue significativamente menos efectivo en la remoción de los pares coadhesivos y no coadhesivos, ante el cepillado eléctrico o con ultrasonido, éste último favoreció la remoción de la adhesión bacteriana en más del 94%.²⁴

No obstante, el hecho de que el cepillado con ultrasonido removió tempranamente *Streptococcus* y *Actinomyces* coadheridos a la película adquirida, la redeposición de la coadhesión de las cepas estreptocóccicas fue más extensiva que la de las cepas estreptocóccicas no coadheridas. Esto es indicativo de que *Actinomyces* que quedan adheridos a la película adquirida, pueden actuar como un sitio preferencial para la redeposición de la coadhesión de las cepas estreptocóccicas, pero además, sugiere que *Actinomyces* que son removidos por el cepillado con ultrasonido podrían dejar material de tipo fimbrias en la superficie de la película, por lo cual son atraídos los estreptococos coadheridos.²⁴

En el presente estudio, se demostró que la lactosa tendría un efecto favorable en la remoción por medio del cepillado, de grandes agregados formados por parejas de bacterias

coadheridas, pero tal efecto no pudo ser demostrado con el fluoruro. La reversibilidad de la lactosa para la coagregación y coadhesión es probablemente el resultado de la disolución de los puentes de calcio. Este estudio demostró el nuevo papel de la coadhesión en la formación de la nueva placa después del cepillado.²⁴

Y. H. Guan y col., (2003)²⁵, estudiaron la inhibición de la adhesión bacterial de *Streptococcus sanguis* en la hidroxiapatita cubierta por saliva, por medio del sodio sintético α,β -poliaspartato.

Uno de los métodos para controlar la placa es el uso de agentes antimicrobianos. Sin embargo, el uso de estos agentes puede conducir potencialmente a cambios ecológicos de la microflora bucal, aumentando la resistencia microbiana [Heath y Rock 2000; Levy 2001: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)]. Para mantener el papel asociado de los microorganismos, mientras se combate la consecuencia patogénica de la placa, se deben adoptar métodos favorables para seleccionar antagonistas que inhiban la adhesión bacteriana sobre la superficie dentaria, y la posible coagregación bacteriana [Marcotte y Lavoie 1998:

Citado por Y. H. Guan y col., (2003)]. Ha sido reportado que algunos componentes salivales, como la lisozima y la lactoperoxidasa, tienen tales propiedades [Roger y col., 1994: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)]. Ampliamente varios productos naturales, tales como *k*-caseína [Vacca-Smith y col., 1994: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)], y extractos de te oolong [Matsumoto y col., 1999: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)], también han sido identificados selectivamente como reductores de la adhesión bacterial. Además, algunos químicos sintetizados como sistemas de 1-octadecanol-fosfatos disodio + surfactantes no iónicos [Olsson y col., 1991: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)], ciertos óxido-etileno y óxido propileno, copolímeros [Wade y col., 1994; Guan y col., 2001: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)], y triglicéridos [Guan y col., 2001: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)], han mostrado poseer propiedades anti-adhesivas.²⁵

La saliva artificial utilizada en este estudio [Pratten y col., 1998: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)] contenía 0.1% de polvo lab-lemco, 0.2% de polvo de extracto de levadura, 0.5% de proteasa peptona, 0.25% de mucina gástrica de cerdo, 6.0 mmol 1^{-1} NaCl, 1.8 mmol 1^{-1} CaCl₂ y 2.7 mmol 1^{-1} KCl. Esta saliva fue

también requerida para mantener el crecimiento de las células de la microbiota bucal por un período de tiempo razonable, y poder evitar la dificultad de remoción de las células microbianas de la saliva humana.²⁵

Los discos de hidroxiapatita (Ø 12 mm x 2.5 mm) fueron hechos bajo presión, incrustando cierto grado de partículas de hidroxiapatita.

Una microtira de ensayo fue usada para medir la antiadhesión del sodio sintético α,β -poliaspartato en *S. sanguis* NCTC 10904, con triglicérido caprílico/capricho como el grupo control positivo, y agua para el control negativo, con algunos impedimentos intermedios en la operación de medida con las microtiras de ensayo [Guan y col., 2001; Guan y col., 2003: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)].²⁵

Siguiendo con la formación de la hidroxiapatita en las microtiras, la adsorción del sodio sintético α,β -poliaspartato en la mencionada hidroxiapatita fue medida bajo dos condiciones libres de bacterias: (a) sobre una superficie de hidroxiapatita

limpia; (b) sobre una superficie de hidroxiapatita pre-cubierta con saliva artificial (30 min, 37°C), ambos seguidos por un lavado con solución salina amortiguadora de fosfato de 4 x 250 µl.²⁵

Después de que la saliva fue cubierta y tratada con el sodio sintético α,β -poliaspartato en soluciones o pasta dental, cada disco de hidroxiapatita fue transferido, luego vaciado en 25 compartimientos de discos Petri de poliestireno. Estos discos fueron sumergidos en 1.5 l de suspensión bacteriana (ca. 10^8 células por cm^3) en un contenedor de propileno esterilizado con alcohol.²⁵

La base de pasta dental utilizada contenía 45.0% (w/w) de sorbitol, 7.0% de abrasivo tipo sílica hidratado, 8.5% de sílica espesa hidratada, 0.26% de sacarina de sodio, 0.24% NaF, 0.50% TiO_2 , 0.90% de carboximetilcelulosa de sodio, 1.50% de sulfato de lauril de sodio, 1.00% de sabor y agua.²⁵

Con respecto a los efectos de anti-adhesión, en todas las microtiras y discos de hidroxiapatita de ensayo (cubiertos o no por saliva), no hay diferencias estadísticas en el nivel de

adhesión bacterial seguidos de 2 a 30 minutos de exposición a la solución de sodio sintético α,β -poliaspartato. Esto implica que el efecto del sodio sintético α,β -poliaspartato en la inhibición de la placa, tiene escasa dependencia con el tiempo de exposición. Los discos de hidroxiapatita de ensayo también mostraron que el sodio sintético α,β -poliaspartato redujo el nivel de células microbianas adheridas, no sólo en las soluciones acuosas, sino también con la fórmula de la pasta dental.²⁵

Los copolímeros óxido-etileno y óxido propileno exhibieron una anti-adhesión eficaz [Guan y col., 2001: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)], y los resultados indican que el uso combinado con el sodio sintético α,β -poliaspartato puede conducir a incrementar la anti-adhesión.²⁵

En general, los dos ensayos utilizados en este estudio fueron consistentes en demostrar la anti-adhesión potencial del sodio sintético α,β -poliaspartato. Cuando la concentración de los copolímeros fue fijada a 10%, aumentó la concentración del sodio sintético α,β -poliaspartato de 0 a 1%, con una tendencia similar a la disminución del conteo bacteriano en ambos ensayos.²⁵

El poliaspartato es un polímero aniónico de múltiples usos, incluyendo la inhibición del crecimiento de los cristales, estabilización de las suspensiones dispersadas, anti-contaminación de organismos e inhibición de la corrosión [Little y Sikes 1991: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)]. Un dominio inusual de los residuos de aspartato en la proteína vinculada con laminina [Clegg y col., 1988: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)], es que poseen una fuerte afinidad por la hidroxiapatita *in vivo*. Los resultados obtenidos en el presente trabajo corroboran la estrecha vinculación del sodio sintético α,β -poliaspartato sobre la superficie de la hidroxiapatita, lo cual ha sido demostrado en estudios previos [Mueller y Sikes 1993: Citado por Y. H. Guan y col., (2003)].²⁵

El sodio sintético α,β -poliaspartato cargado negativamente en la superficie de la hidroxiapatita, tenderá a repeler la bacteria cargada negativamente, y en consecuencia podría inhibir las etapas iniciales de la formación de la placa. También se postuló que hay un efecto adicional en la formación de la placa como son las proteínas salivales, las cuales han sido desplazadas desde la superficie de la hidroxiapatita, y que tienen receptores para la adhesión bacterial [Drake y col., 1988: Citado por Y. H. Guan y

col., (2003)].²⁵

S. M. Colby y col., (1999)²⁶, estudiaron el efecto de la inactivación de los genes de las glucosiltransferasas en la adherencia de *Streptococcus downei*.

El principal factor que contribuye al desarrollo de la placa dental y la subsecuente formación de la caries, es la producción de glucanos extracelulares a partir de la sacarosa por las glucosiltransferasas de *Streptococcus mutans*. Estos polímeros son de importancia central en las interacciones adhesivas de la placa, donde ellos intervienen en la adherencia de la bacteria a la superficie dentaria y a otras bacterias, estabilizando el biofilm de la placa. La presencia de glucanos también modulan la permeabilidad de la placa, aumentando el nivel de producción de ácido a la superficie del esmalte.²⁶

Las dos principales especies asociadas con la caries en humanos son *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*. *S. mutans* es susceptible a la manipulación genética, y mucha información valiosa ha sido archivada por la inactivación

selectiva de genes importantes en el metabolismo de la sacarosa. Las glucosiltransferasas de *S. sobrinus* han sido ampliamente estudiadas bioquímicamente, y los glucanos producidos por ellos son bien caracterizados. Debido a esto, probablemente se conoce más acerca de la bioquímica de las glucosiltransferasas de *S. sobrinus* que las de *S. mutans*, pero *S. sobrinus* no es transformable con DNA. Por lo tanto, los autores citados eligieron para investigar la estrecha relación con *Streptococcus downei*. No obstante, las glucosiltransferasas de estas dos especies, *S. sobrinus* y *S. downei* tienen propiedades electroforéticas y cromatográficas en común, y sus genes muestran un alto grado de homología.²⁶

S. downei y *S. sobrinus* producen cuatro glucosiltransferasas (GTF). Una de ellas, GTF-I, sintetiza glucanos insolubles en agua, mientras que las GTF-S, GTF-T y GTF-U, producen glucanos solubles en agua, los cuales se diferencian por su peso molecular y por el grado de división de los residuos glucosídicos.²⁶

Los intercambios alélicos permiten la producción de mutaciones específicas, y esa técnica ha sido utilizada en

Streptococcus mutans para demostrar que el glucano insoluble tiene un papel importante, tanto en la adhesión bacterial, como en la cariogenicidad. Dos de los genes *gtf* de *S. downei*, *gtfI* y *gtfS*, han sido clonados y secuenciados. En este estudio se describe la construcción de nuevos mutantes de *S. downei*, donde simples o múltiples genes *gtf* fueron inactivados por medio de intercambios alélicos, para producir mutaciones que fueron *gtfS*, *gtfI*, *gtfS/gtfI* y *gtfS/gtfT* en orden para ganar importancia dentro de la participación de GTF-S y GTF-T primero-independientes en la formación del producto glucano final.²⁶

Los resultados confirman que la *gtfI* (gen de *gtf* mutante a partir de *S. downei*), es esencial para la formación del glucano insoluble implicado en la adherencia, mientras que se demostró que las enzimas primero-independientes codificadas por *gtfS* y *gtfT* son necesarias para la máxima adherencia.²⁶

La naturaleza del producto de glucano final en *S. downei* dependerá, no sólo de la cantidad de cada glucosiltransferasa presente, y su actividad, sino también, de la actividad de la dextranasa extracelular y el inhibidor de la dextranasa.

La producción de mutantes de *gtf* específicos ha ofrecido grandes ideas sobre la relativa importancia de las glucosiltransferasas individuales en la producción de glucanos adhesivos. En futuros estudios, las mutaciones de *gtfU*, así como la dextranasa mutante, aumentará la comprensión de su fundamental contribución en el proceso de caries dental.²⁶

J. V. Embleton y col., (2001)²⁷, analizaron la inhibición de la amina y los fluoruros de estaño sobre la adhesión de *Streptococcus sanguis* bajo flujo continuo. La amina y los fluoruros de estaño son agentes antimicrobianos que exhiben una actividad anti-caries. Además, está documentado que los fluoruros de amina y los fluoruros de estaño poseen actividad bactericida contra las bacterias bucales. En este estudio fue investigada la anti-adhesión de tres fluoruros de amina y combinaciones de fluoruro de amina y fluoruro de estaño, sobre *S. sanguis* NCTC 10904, un colonizador primario del esmalte limpio, en un sistema de flujo continuo.

El vidrio o cristal fue usado como sustrato en los experimentos de adhesión. La adhesión de *S. sanguis* al cristal condicionado con saliva o suero de albúmina de bovino, es

similar a la adhesión del esmalte humano condicionado.

El objetivo era determinar si la amina y el fluoruro de estaño poseían una actividad y substantividad suficiente para reducir la adhesión de *S. sanguis*. Sólo uno de los tres compuestos de fluoruro de amina estudiados, Steraflur ($C_{22}H_{45}FNO_2$); y dos de fluoruro de estaño fueron válidos para reducir la completa adhesión de *S. sanguis* en el cristal condicionado luego de 1 hora. El fluoruro de estaño (Olaflur), inhibió la adhesión de *S. sanguis* de manera importante, y mostró ser dependiente en la formación de la película adquirida, previo a la aplicación del agente.²⁷

Decker y col., (2003)²⁸, realizaron un estudio comparativo para evaluar los efectos antibacteriales y antiadhesivos de determinados antisépticos sobre *Streptococcus sanguinis*.

El principal agente estudiado es la clorhexidina, debido a su eficacia clínica y a su substantividad en la cavidad bucal. No obstante, el gran beneficio de estos bactericidas por la aplicación de agentes antisépticos puede estar acompañado de

efectos secundarios (por ej., la disolución selectiva del balance microbiano en el ecosistema bucal, por la destrucción de las poblaciones comensales). Por lo tanto, las estrategias no bactericidas sumadas a las bactericidas son de mayor interés para el control del biofilm dental, utilizando sustancias antiadhesivas que promueven la desunión de los depósitos microbianos, o la inhibición de la adhesión bacteriana inicial.²⁸

El objetivo de este estudio fue el de comparar el efecto de tres antisépticos bactericidas (Clorhexidina, Olaflur y Octenisept), y una sustancia antiadhesiva (Chitosan), en la viabilidad y densidad celular de *Streptococcus sanguinis*.

La eficacia de los antisépticos fue evaluada por la diferenciación entre sus efectos sobre los estreptococos plantónicos y los adheridos. En el primer experimento ($n = 10$), la bacteria plantónica fue expuesta a NaCl (0.9%), digluconato de clorhexidina (0.1%), Olaflur (0.13%), Octenisept (0.1%), y chitosan. Después de colocadas en suspensión de saliva humana estéril, las células fueron aisladas para adherirlas al esmalte en un sistema de cámara de fluido durante 60 minutos. En el segundo experimento ($n = 10$), luego de los 60 minutos del

tiempo de adhesión en la cámara de fluido, los estreptococos adheridos fueron expuestos a las soluciones de enjuague correspondientes.²⁸

El efecto de las soluciones en los estreptococos fue caracterizado por la determinación de los siguientes parámetros: porcentaje de estreptococos vitales adheridos, conteo bacteriano de estreptococos adheridos al esmalte en un área aproximada de 1 mm², conteo de células bacterianas por ml⁻¹ de la suspensión, y formación de unidades de colonias por ml⁻¹ de la suspensión.²⁸

En conclusión, los nuevos agentes antiplaca son altamente eficientes, y son considerados para futuros procedimientos profilácticos. El agente antiséptico Octenisept, mostró ser más efectivo que la clorhexidina en su prolongada actividad antiadhesiva bacteriana. Para ambos experimentos, la eficacia de los antisépticos en la reducción de la viabilidad de los estreptococos plantónicos y adheridos fue Octenisept > Olaflur > Clorhexidina > NaCl > Chitosan. Nuevos estudios aparecen para desarrollar importantes estrategias antiplaca y antibiofilm, involucrando fórmulas altamente eficientes que incluyan bactericidas con antiadhesivos.²⁸

T. D. Morgan y M. Wilson (2000)²⁹, evaluaron las propiedades antibacteriales y antiadhesivas de los productos de limpieza para las prótesis totales.

Las prótesis totales acumulan placa y cálculo de una manera similar a los dientes [Neill 1968: Citado por T. D. Morgan y M. Wilson (2000)]. En la cavidad bucal, la película adquirida se forma rápidamente en superficies “no cubiertas” (dientes e implantes dentales) [Edgerton y Levine 1992: Citado por T. D. Morgan y M. Wilson (2000)], las cuales poseen características físico-químicas fundamentales del substrato. Esta película adquirida está compuesta principalmente por compuestos salivales derivados del hospedero, los cuales incluyen mucinas de alto peso molecular [Kolenbrander 1993: Citado por T. D. Morgan y M. Wilson (2000)]. El deterioro de las prótesis totales estimula una alta prevalencia de *S. mutans*, lactobacilos, estafilococos y formas de levadura en la cavidad bucal, comparado con los sujetos que no son portadores de dentaduras totales [Marsh y col., 1992: Citado por T. D. Morgan y M. Wilson (2000)]. Aunque la biología de *Streptococcus mutans* ha sido estudiada, y es conocido su potencial cariogénico [Hamada y Slade 1980: Citado por T. D. Morgan y M. Wilson (2000)], es

menos conocida la interacción de *S. mutans* con las dentaduras acrílicas, aunque la adhesión ha sido monitorizada utilizando microcalorímetro [Morgan y Beezer 1998: Citado por T. D. Morgan y M. Wilson (2000)]. *S. mutans*, un agente etiológico en el inicio de la caries y su avance, no es prevalente en sujetos edéntulos [Carlsson y col., 1969: Citado por T. D. Morgan y M. Wilson (2000)].²⁹

La falta de higiene de la prótesis proporciona mal olor, vista antiestética y estomatitis sub-protésica [Wilson, 1998: Citado por T. D. Morgan y M. Wilson (2000)]. Las cualidades buscadas en un agente limpiador de dentaduras son: fácil uso, remoción efectiva de los depósitos sin daño a la dentadura, bactericida y fungicida, no tóxico, no irritante, estable y definido químicamente, y costo razonable. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia antimicrobiana y antiadhesiva de estos productos limpiadores de dentaduras.²⁹

Los resultados de este estudio muestran, que las soluciones limpiadoras para prótesis exhibieron un 100% de destrucción contra *Streptococcus mutans* asociados con la dentadura acrílica, e inhibieron la adhesión de células en un 66%.²⁹

Barrientos (2003)³⁰, realiza un estudio experimental para la detección de glucosiltransferasa B en cepas de *Streptococcus mutans* aisladas de pacientes sanos. Desde la determinación de *Streptococcus mutans* como el agente etiológico infeccioso de la caries dental, han sido estudiados en profundidad dos de sus factores de virulencia: la proteína asociada a superficie y la glucosiltransferasa B, buscando en ellas los antígenos que permitan la obtención de una vacuna contra la enfermedad. Las glucosiltransferasas (GTF), son tres enzimas GTF B, GTF C y GTF D, producidas por el microorganismo que desdobla la sacarosa, sintetizando glucanos insolubles que sirven para dar soporte a la placa dental, y glucanos solubles que son fuente nutricional para los microorganismos que allí se encuentran. Estudios anteriores han demostrado como estreptococos genéticamente manipulados para evitar la producción de GTF B, pierden su capacidad de adhesión y agregación en la placa. A cada individuo se le tomó una muestra de placa dental para aislar *S. mutans*. Las proteínas fueron obtenidas por precipitación con sulfato de amonio para las extracelulares, y extracción con urea para las proteínas asociadas a membrana. La presencia de GTF B, fue determinada por Western Blot, y la producción de polisacáridos por separación electroforética, incubación con sacarosa y coloración de Schiff. Los resultados

muestran como en estos individuos en su gran mayoría, *S. mutans* expresan la enzima y producen polisacáridos, aunque existen cepas no productoras de GTF B con capacidad de sintetizar glucanos, probablemente gracias a la GTF C. Esto evidencia como estos factores de virulencia, son de alguna manera controlados por la producción de dextranasas, proteínas inhibitorias de la actividad enzimática, o a la actividad de la inmunoglobulina A del hospedero.³⁰

La existencia de cepas no productoras indica que hay condiciones en la boca que favorecen cambios genéticos, tales como mutaciones en la bacteria, y que a pesar de éstas, la cepa puede sobrevivir en el medio bucal sin ser altamente patógeno. Se abren así perspectivas con respecto al estudio de otras proteínas como la GTF C, como blanco de una vacuna contra la caries, teniendo en cuenta que esta enzima, también secretada por el microorganismo, tiene una doble función en la adhesión y mantenimiento de la placa dental por su capacidad de producir glucanos, tanto solubles, como insolubles.³⁰

M. J. M. Schaeken y col., (1996)³¹, evaluaron los efectos del barniz de diacetato de clorhexidina al 40% en las genopecies

de *Actinomyces naeslundii* presentes en placa de fisuras dentales. En cada uno de los 15 sujetos, dos fisuras dentales con altos niveles de *Streptococcus mutans* fueron seleccionadas. El tratamiento experimental consistió en una simple aplicación de una pequeña cantidad del barniz de clorhexidina sobre las fisuras seleccionadas. El barniz fue removido 15 minutos después de la aplicación. Un mes después, se observó un aumento significativo en el conteo de *Actinomyces naeslundii*, mientras que el conteo de *Streptococcus mutans* disminuyó significativamente, comparado con los niveles pre-experimentales. Por otra parte, de los 85 actinomyces seleccionados aleatoriamente, 44% pertenecen a *Actinomyces naeslundii* genoespecies 1, y 56% a *Actinomyces naeslundii* genoespecies 2. Estas aplicaciones del barniz de clorhexidina no indujeron cambios significativos en la distribución de estas dos genoespecies de *Actinomyces naeslundii*.³¹

Estudios recientes han indicado que el grupo de *Streptococcus oralis*, tales como *Streptococcus gordonii*, *S. oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, y especies de *Actinomyces* juegan un papel importante en la supresión de *S. mutans* [Mikx y col., 1975; Van der Hoeven y Rogers, 1979;

McDermid y col., 1987; Perrons y Donoghue, 1990: Citado por M. J. M. Schaeken y col., (1996)]. En efecto, utilizando ratas gnotobióticas, se ha podido demostrar que cepas de *Streptococcus* y *Actinomyces* inhiben el recrecimiento de *Streptococcus mutans* después de la aplicación de clorhexidina [Van der Hoeven y Schaeken, 1995: Citado por M. J. M. Schaeken y col., (1996)].³¹

Las genopecies 1 y 2 de *Actinomyces naeslundii* son partes dominantes en la microflora de la placa dental, y tienen cubiertos los requerimientos del substrato con *S. mutans*, y estreptococos del grupo de *Streptococcus oralis*.³¹

En este estudio se demostró que la cantidad de *A. naeslundii* fue significativamente mayor después de las aplicaciones del barniz de clorhexidina. Resultados similares fueron mostrados en monos luego de enjuagues con clorhexidina al 1% [Emilson y col., 1981: Citado por M. J. M. Schaeken y col., (1996)]; y después del tratamiento con barniz de clorhexidina en superficies radiculares de pacientes con alteraciones periodontales [Schaeken y col., 1991a: Citado por M. J. M. Schaeken y col., (1996)]. En contraste, [Fure y Emilson, 1990: Citado por M. J. M.

Schaeken y col., (1996)], no reportaron aumento en los niveles de actinomyces, luego de tratamientos combinados con barniz y gel de clorhexidina.²⁸

Con respecto a las interacciones entre *S. mutans* y *A. naeslundii*, la competencia por azúcares libres es el principal determinante de la cantidad de poblaciones de estos organismos en placa dental. Aunque *A. naeslundii* pierde competencia con *S. mutans* para azúcares libres anaeróbicamente [Van der Hoeven y de Jong, 1984; Van der Hoeven y Gottschal, 1989: Citado por M. J. M. Schaeken y col., (1996)], el organismo compite bajo la presencia de oxígeno, aumentando la producción celular [De Jong y col., 1988; Van der Hoeven y van den Kieboom, 1990: Citado por M. J. M. Schaeken y col., (1996)]. Además, *A. naeslundii* es menos sensible a la inhibición del crecimiento por oxígeno, que *S. mutans* [Van der Hoeven y Gottschal, 1989: Citado por M. J. M. Schaeken y col., (1996)].³¹

J. A. Cury y col., (1997)³², estudiaron la relación *in situ* entre la exposición de sacarosa y la composición de la placa dental. Doce adultos voluntarios tomaron parte en este estudio de cuatro fases de 28 días cada una. Para cada fase de la investigación,

un aparato palatino de resina acrílica que contenía cuatro bloques de esmalte dental humano fue construido para cada voluntario. Una solución de sacarosa al 20% fue goteada sobre los bloques de esmalte de 1 a 8 veces diarias. Durante el período experimental, todos los sujetos utilizaron dentífrico libre de fluoruro, se abstuvieron del cepillado de los bloques de esmalte, y tomaron agua fluorurada al 0.70 ppm F. Después de cada fase, la concentración de fluoruro (F), calcio (Ca), fósforo (P), y de carbohidrato total fue determinada en placa dental. Los análisis estadísticos mostraron que la frecuente exposición de sacarosa redujo significativamente las concentraciones de F, Ca y P en placa dental, pero aumentó la concentración de carbohidrato soluble alcalino. Los resultados sugieren que la cariogenicidad de la placa dental formada en presencia de sacarosa, no sólo debe ser atribuida a su alta porosidad, sino que las bajas concentraciones inorgánicas pueden también ser importantes.³²

La sacarosa es el más importante de todos los carbohidratos cariogénicos, debido a su función específica como sustrato para la síntesis de glucanos extracelulares por parte de *Streptococcus mutans* [Newbrun, 1967: Citado por J. A. Cury y col., (1997)]. De

tal manera, acorde a la literatura, la placa dental formada en presencia de este compuesto sería más cariogénica, debido a la aumentada porosidad por la matriz rica en glucanos [Dibdin y Shellis, 1988; van Houte, 1994: Citado por J. A. Cury y col., (1997)].³²

El desarrollo de la caries es un proceso dinámico que depende de las condiciones prevalentes en la interfase esmalte-dentina / placa dental. La concentración del ión hidrógeno (pH) y la composición inorgánica de la placa dental serán condiciones para establecer una baja o alta saturación, que favorecerá la desmineralización o remineralización del diente [Cury, 1993: Citado por J. A. Cury y col., (1997)].³²

El cambio en la composición inorgánica de la placa dental con la frecuencia aumentada en la exposición de sacarosa puede tener tres explicaciones. La primera sería que las constantes bajas de pH en el ambiente por la fermentación de la sacarosa liberaría iones minerales, los cuales podrían entrar por difusión a la saliva. La segunda explicación, es que el esmalte tendría estos iones desde la placa dental durante el ciclo de pH, luego del reto de la sacarosa. Y la tercera podría ser, el balance entre

proteína y polisacárido en la matriz de la placa durante la formación de la misma en presencia del carbohidrato. Los polisacáridos extracelulares más importantes son los alcalinos solubles (glucano insoluble), porque ellos influyen en la estructura y propiedades de la matriz de placa dental. La alta concentración de glucano alcalino soluble en placa dental puede aumentar su porosidad y cariogenicidad [Dibdin y Shellis, 1988; van Houte, 1994; Zero, 1995: Citado por J. A. Cury y col., (1997)].³²

Yoji Saeki y col., (1996)³³, analizaron los efectos inhibitorios del funoran en la adherencia y colonización de *Streptococcus mutans*. El funoran es un polisacárido sulfatado extraído del alga roja *Gloiopeltis furcata*, el cual inhibió fuertemente la adsorción de *S. mutans* a la hidroxiapatita cubierta por saliva, pero aumentó la adsorción de *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 y *Streptococcus oralis* ATCC 10557. Además, el funoran tiene una importante actividad de desorción contra *S. mutans* preadsorbidos a la hidroxiapatita. En presencia de sacarosa, la adsorción de células de *Streptococcus sobrinus* B13, *Streptococcus mutans* Ingbritt, y *S. mutans* MT8148R a la hidroxiapatita cubierta por saliva fue fuertemente inhibida por

funoran al 0.01%. La colonización de *S. sobrinus* 6715, inoculados en los molares de ratas experimentales donde fue administrado funoran fue menos frecuente, que en el grupo control libre de funoran.³³

En estudios previos [Saeki, 1994: Citado por Yoji Saeki y col., (1996)], se demostró que el funoran inhibió fuertemente la adsorción de *S. sobrinus* B13 a la hidroxiapatita. En el presente estudio, fue evaluado el efecto del funoran *in vitro* en la adsorción del estreptococo bucal a la hidroxiapatita, y el efecto anticariogénico en ratas experimentales infectadas con *S. sobrinus*.³³

El sulfato del funoran puede interferir con la interacción entre la superficie del estreptococo y la película adquirida, porque el sulfato aglutina fuertemente a la proteína de la película adquirida [Hansen, 1968: Citado por Yoji Saeki y col., (1996)]. El funoran está compuesto de *D*-galactosa y 3,6-anhidro-*L*-galactosa. Los residuos de galactosa pueden comprimir parte del receptor de *S. mutans* en la película [Gibbons, 1984: Citado por Yoji Saeki y col., (1996)], porque esta unión a la hidroxiapatita es inhibida por la galactosa [Gibbons y Qureshi, 1979: Citado por Yoji Saeki y

col., (1996)]. Por lo tanto, la inhibición de la adsorción y la actividad de desorción del funoran, puede ser debida a los componentes de carbohidrato específicos del mismo.³³

Los resultados sugieren que el funoran podría excluir bacterias cariogénicas de la superficie dentaria, y ser efectivo en la reducción de la caries dental.

C. Robinson y col., (1997)³⁴, estudiaron un método cuantitativo para determinar la bioquímica en sitios específicos dentro del biofilm de placa dental formada *in vivo*. El estudio del biofilm de placa en la cavidad bucal es dificultoso, inevitablemente la remoción de la placa interrumpe la integridad del biofilm, excepto estudios cinéticos que comprende la penetración de componentes y substratos del metabolismo *in situ*. En el método descrito en este estudio, la placa es formada *in vivo* bajo condiciones normales o experimentales, usando un dispositivo de colección, el cual puede ser removido de la boca después de un tiempo determinado sin distorsión física del biofilm de la placa, permitiendo el análisis de sitios específicos de la placa dental. Utilizando este dispositivo, las concentraciones de fluoruro en placa varían con respecto a la

profundidad de la misma, y la exposición *in vitro* a corto plazo de componentes radiomarcadores pueden ser extraídos, permitiendo conclusiones importantes acerca de la composición y dinámica de sitios específicos de la placa dental.³⁴

El estudio de la difusión y metabolismo dentro del biofilm de placa dental *in vivo* es extremadamente difícil. La película es muy delgada, áreas usualmente inaccesibles, y el uso de marcadores químicos o radioactivos en la cavidad bucal son clínicamente inaceptables.³⁴

El objetivo del presente trabajo fue describir la construcción de cada dispositivo, el cual adherido a la superficie dentaria permite la acumulación de la placa en las superficies de esmalte natural humano. El dispositivo puede estar ubicado en sitios específicos de la boca para su estudio, y puede dejarse *in situ* por períodos relativamente largos de tiempo sin la necesidad de suspender la higiene bucal. El diseño permite la remoción de la placa formada naturalmente, sin la distorsión física de la misma, para el análisis inmediato, o para estudios experimentales *in vitro*.³⁴

Finalmente, luego de la colección de placa, el dispositivo puede ser utilizado para exponer la placa no distorsionada a moléculas indicadoras radioactivas, las cuales claramente no pueden ser usadas en situaciones *in vivo*.³⁴

La evaluación estructural de la placa reveló la presencia de cocos y organismos filamentosos. Los análisis microbiológicos indicaron que la flora es similar a la reportada en placas naturales [Christersson y col., 1991; Theilade y col., 1982: Citado por C. Robinson y col., (1997)].³⁴

No existen estudios previos que hayan investigado la distribución espacial del fluoruro dentro de la profundidad de la placa. El análisis del fluoruro en placas de nueve a siete días, mostró un rango similar a los valores reportados por otros trabajos.³⁴

Los experimentos piloto usando radiomarcadores de sacarosa y fosfato ilustran el uso de este sistema para la investigación de la penetración de iones minerales y potenciales substratos bacteriales dentro de la placa. Los resultados indicaron que la

penetración de C-sacarosa y P-fosfato fue espacialmente restringida dentro de la capa de placa, luego de 30 segundos de exposición. Futuros estudios permitirán importantes conclusiones con respecto a la dinámica y composición de sitios específicos de la placa dental, proporcionando un sistema de test para optimizar los efectos de los agentes terapéuticos, y su papel en el balance de la desmineralización y remineralización.³⁴

J. A. Cury y col., (2000)³⁵, analizaron la composición bioquímica y la cariogenicidad de la placa dental, formada en presencia de sacarosa, o de glucosa y fructosa. Doce adultos voluntarios tomaron parte en este estudio, el cual comprendía tres fases de 28 días cada una. Para cada fase, fue elaborado un aparato en resina acrílica que incluía cuatro bloques de esmalte dental humano. Las soluciones contenían 20% de sacarosa, o 10% de glucosa más 10% de fructosa, las cuales fueron goteadas dentro o sobre los bloques de esmalte 8 veces diarias, mientras que en el grupo control no se utilizó ningún tipo de solución.³⁵

Los resultados del presente estudio, mostraron que la placa dental formada en presencia del carbohidrato fue más

cariogénica, que la que se formó en presencia de glucosa más fructosa. De igual manera, la concentración de carbohidratos alcalinos solubles en placa dental, fue más alta en el grupo de la sacarosa, que en el de glucosa más fructosa y en el grupo control. Aunque las concentraciones de Ca, P y F fueron menores en el grupo de la sacarosa, comparado con los otros dos grupos, el perfil electroforético de la matriz de proteínas en la placa dental mostraron patrones distintos cuando ésta se formó en ausencia o presencia de diferentes carbohidratos. Aunque los resultados sugieren que la alta cariogenicidad de la placa dental formada en presencia de sacarosa puede explicarse por la elevada concentración de glucanos insolubles de su matriz, la baja composición inorgánica y proteínica podría tener alguna contribución.³⁵

K. G. Babaahmady y col., (1998)³⁶, realizaron un estudio ecológico de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Lactobacillus* spp. de placa dental proximal en niños. Estudios anteriores de inmunofluorescencia, han indicado que *Streptococcus mutans* coloniza preferencialmente subsitios específicos dentro de la placa proximal. El presente trabajo tiene como objetivo, extender estas observaciones a otros *S. mutans* y

Lactobacillus en la placa proximal y del margen gingival. Doscientos setenta muestras de placa proximal fueron tomadas de 90 dientes (3 de cada diente), en 64 niños; tres subsitios del margen gingival en relación con el área de contacto: lejos, al lado y por debajo del área de contacto. Las muestras fueron procesadas por inmunofluorescencia indirecta utilizando anticuerpos anti-*S. mutans* 'c', anti-*S. sobrinus* 'd', anti-*L. casei* y anti-*L. acidophilus*. Hubo una relación positiva entre la presencia de *lactobacillus* o *S. mutans*, y la caries (sólo en las lesiones de manchas blancas iniciales), aunque estas especies podrían ser aisladas frecuentemente en sitios no cariosos. La presencia de *S. mutans* 'c' y *S. sobrinus* 'd' muestran una correlación importante con las lesiones iniciales de caries. Además, este estudio confirmó la variación en la microflora de diferentes subsitios dentro de la placa dental proximal.³⁶

Un gran aumento en el conteo de *Streptococcus mutans* sobre las manchas blancas como lesiones iniciales de caries fue notado por [Duchin y van Houte, 1978: Citado por K. G. Babaahmady y col., (1998)]. Ellos demostraron 100 diferencias cruzadas en la concentración de *S. mutans* en muestras tomadas de una simple lesión de mancha blanca, comparado con esmalte

sano en zonas adyacentes.³⁶

Los estudios realizados han demostrado que *S. mutans* fue aislado más frecuentemente que el serotipo de *S. sobrinus*. Esto puede ser debido, particularmente a las diferencias fundamentales entre los mecanismos por los cuales *S. mutans* y *S. sobrinus* se adhieren a la película en la superficie dentaria. [Wennerholm y Emilson, 1995: Citado por K. G. Babaahmady y col., (1998)], resaltaron que la frecuente disminución de *S. mutans* sobre los dientes anteriores, con predominio de *S. sobrinus* sobre *S. mutans*, puede deberse al factor de que los molares reciben una limpieza menos efectiva que los dientes anteriores y tienen un pH menor, favoreciendo el crecimiento de estas especies [Bradshaw y col., 1989: Citado por K. G. Babaahmady y col., (1998)].³⁶

La mayor frecuencia de *S. mutans* en los sitios proximales maxilares están en concordancia con los resultados de [McNamara y col., 1979: Citado por K. G. Babaahmady y col., (1998)]. Esto puede ser explicado por los accesos relativamente limitados de la saliva a estos sitios. Donde el acceso de saliva a los sitios de placa es reducido, una disminución en el pH local

tiende a ocurrir. Un bajo pH en los sitios por debajo del área de contacto, puede conducir a un aumento en las proporciones de lactobacilos y estreptococos en la placa de esos sitios.³⁶

En este estudio, *S. mutans* y *S. sobrinus* fueron detectados sobre el 64% de lesiones de mancha blanca, sugiriendo que la colonización por la combinación de estas especies podría incrementar el riesgo de caries.³⁶

18. COLONIZACIÓN SECUNDARIA Y TERCIARIA

Tras la multiplicación activa de los microorganismos establecidos en la fase de colonización primaria, disminuye la velocidad de crecimiento de algunos de ellos y se incorporan otros que son transportados por los mismos mecanismos que utilizaban los primeros que llegaban a la película adquirida.¹²

En la colonización secundaria, las bacterias comienzan a aumentar en número, y se da inicio a un proceso de sucesión ecológica autogénica (los microorganismos residentes modifican el ambiente, de tal forma que ellos mismos pueden ser sustituidos por otros más adaptados al hábitat modificado). En estas condiciones, la placa es un conglomerado bacteriano proliferante y enzimáticamente activo, adherido fuertemente a la superficie dentaria.⁸

Los colonizadores secundarios son los microorganismos que no acceden inicialmente a la superficie dentaria limpia, incluyendo *Prevotella intermedia*, *Prevotella loescheii*, *Capnocytophaga* spp., *Fusobacterium nucleatum*, y

Porphyromonas gingivalis. Estos microorganismos se adhieren a las células de las bacterias que se encuentran alrededor de la placa.¹¹

Los fenómenos que caracterizan a esta etapa pueden esquematizarse de la siguiente manera ¹²:

- La placa aumenta de grosor, las zonas más profundas se van haciendo más anaerobias, por lo que muchas bacterias, preferentemente aerobias, casi desaparecen y se añaden otras que requieren un potencial de oxidorreducción más bajo. Así pues, los anaerobios estrictos se localizarán en las porciones más internas de la placa, los aerobios en las más superficiales, y los estreptococos en cualquier lugar.

- Se van produciendo cambios cualitativos microbianos inducidos por factores antagónicos: consumo de oxígeno por bacterias aerobias, competencia por nutrientes y producción de peróxido de hidrógeno, de ácidos, de bacteriocinas y microcinas, de metabolitos tóxicos, etc., con lo que las bacterias más aeróbicas van siendo sustituidas por anaerobias facultativas.^{8,12}

- Entran en juego suministros nutricionales de aquellos elementos energéticos fundamentales; proceden de fuentes interbacterianas, de las degradativas de la matriz acelular y, en menor grado, de las excretoras.

- Aún siguen produciéndose fenómenos adhesivos a la película adquirida, debido a la invasión de nuevas bacterias que sustituyen a otras que terminan por desaparecer. Así, *Fusobacterium nucleatum* sspp., *Porphyromonas* spp., *Prevotella loescheii* y *Prevotella melaninogenica*, mediante uniones proteína-proteína, lo hacen a proteínas ricas en prolina. Por otra parte, la eliminación del ácido siálico de la mucina adsorbida deja nuevos receptores glucosídicos que permiten fenómenos adhesivos de otras bacterias.

- Sin embargo, aunque siguen existiendo los procesos adhesivos, lo más característico de esta etapa, aparte de la multiplicación de algunas bacterias preexistentes, y de las que se incorporan de nuevo, son los fenómenos de agregación, y especialmente de coagregación. Estos últimos suponen uniones heterotípicas entre especies pertenecientes a géneros diferentes, entre las que destacan las de tipo lectina-carbohidrato. De esta manera la

estructura de la placa cambia sensiblemente: hay un incremento de formas bacilares, y aparecen las típicas imágenes en mazorcas de maíz (coagregación de cocos sobre bacilos), pilosas (coagregación de bacilos sobre bacilos) y mixtas. En unos casos, la coagregación se realiza entre colonizadores primarios (por ej., *A. naeslundii*, *S. sanguis*, *S. gordonii* y *S. mitis*). En otros, se efectúa entre especies nuevas y las colonizadoras primarias (por ej., *Propionibacterium acnes* con *S. gordonii*, *Capnocytophaga ochracea* con *S. mitis*, *Haemophilus parainfluenzae* con *S. sanguis*, *F. nucleatum* sspp. con *A. naeslundii*). En otras ocasiones, la coagregación se establece entre estos colonizadores secundarios y otras nuevas especies incapaces de coagregarse con los colonizadores primarios, y que pasarán a ser colonizadores terciarios (por ej., *F. nucleatum* sspp. con *Selenomonas flueggei* o con *Treponema* spp.).⁹ Otro tipo de interacciones entre colonizadores secundarios y primarios, incluye la coagregación de *F. nucleatum* con *S. sanguis*, *P. loescheii* con *A. viscosus*, y *Capnocytophaga ochracea* con *A. viscosus*.¹¹

- La síntesis de polisacáridos extracelulares, especialmente mutanos, por estreptococos del grupo mutans continúan

contribuyendo a la integridad de la placa; estos glucanos, junto con dextranos y fructanos, de estos y otros estreptococos, siguen originando microcolonias que cada vez se harán más confluentes.¹²

19. PLACA MADURA

Se alcanza con el curso del tiempo que es muy variable, pero puede llegarse a las 2 ó 3 semanas. Se constituye una placa relativamente estable y, aunque el equilibrio puede verse alterado por algunas variaciones o fluctuaciones internas (especialmente ligadas a fenómenos antagónicos selectivos), la composición microbiana suele cambiar poco. Quizás el hecho más significativo, sea la detección de algunos treponemas en las zonas más profundas donde el potencial de oxidorreducción es muy bajo. Al envejecer la placa, las capas más internas, además de verse privadas de oxígeno, también lo estarán de nutrientes. Los productos de desecho se acumulan y hay una reducción gradual de microorganismos vivos; por ello, los estudios microscópicos revelan la existencia de espacios vacíos por autólisis de algunas bacterias.¹²

En las etapas tardías de la formación de la placa, la coagregación entre diferentes especies Gram-negativas es altamente predominante. Ejemplos de estos tipos de interacciones, son la coagregación de *F. nucleatum* con *P. gingivalis* o *Treponema denticola*.¹¹

A lo largo de cualquiera de las etapas precedentes (colonización primaria, secundaria, terciaria y maduración), se producen fenómenos de “despegamiento” de las bacterias, tanto de la película adquirida, como de los agregados y coagregados. Se deben a la acción de algunas proteasas que hidrolizan adhesinas que están en las superficies parietales, o en las fimbrias. Así, los microorganismos desplazados de la placa pasan a la saliva, desde donde están dispuestos para iniciar nuevas colonizaciones, salvo que sean arrastrados hacia el aparato digestivo, no estén viables o hayan perdido todas sus adhesinas.¹²

20. DISCUSIÓN

Según Liébana (2002), existen diferentes métodos destinados al control microbiológico de las placas dentales, y se clasifican en tres grupos: antimicrobianos, bloqueantes de la adhesión y eliminación mecánica. Dentro del grupo de los antimicrobianos, se encuentran los antisépticos, siendo el más utilizado la clorhexidina. Igualmente, se pueden emplear otros compuestos antisépticos, tales como: sales de metales pesados, agentes oxidantes (yodo, flúor), derivados del amonio cuaternario (cloruro de benzalconio), derivados fenólicos como el timol y triclosán. También entre otros productos, se ha usado el xilitol, el cual es captado por algunas cepas de *S. mutans*.

De tal manera, K. K. Mäkinen y col., (2001), coincidiendo con lo anteriormente expuesto, realizaron un estudio comparativo entre unas pastillas estimulantes de saliva que contenían eritritol y xilitol, para el control de placa dental y *Streptococcus mutans*, concluyendo que el xilitol fue más efectivo en la reducción del crecimiento de la placa dental y *S. mutans*, debido a que específicamente el xilitol debilita la adhesividad de las bacterias a la superficie, debilitando también el potencial acidogénico del

azúcar.

Bajo el mismo aspecto, de forma comparativa, S. Shani y col., (2000), evaluaron el efecto anticariogénico de los fluoruros de amina sobre *S. sobrinus* y glucosiltransferasas, en un biofilm de placa dental experimental, demostrando que la viabilidad del *S. sobrinus* disminuyó por el aumento de la concentración del fluoruro de amina y la clorhexidina. Estos mismos autores, concluyeron que el fluoruro y cloruro de amina tienen un efecto inhibitorio en la actividad de las glucosiltransferasas, las cuales juegan un papel importante en la adhesión bacteriana.

Con respecto al uso de sales de metales pesados como antisépticos, citado por Liébana (2002), se puede evidenciar de alguna manera su efecto, a través del estudio realizado por Tanagawa y col., (1999), quienes evaluaron la acción inhibitoria de tres tipos de resina compuesta con actividad antibacterial contra *S. mutans*. Las mencionadas resinas contenían iones de plata implantados en su relleno, demostrando efectos antibacteriales en los estreptococos bucales.

Liébana y col., (2002), refiere que entre las numerosas sustancias para el control microbiológico de las placas dentales, se encuentra el derivado fenólico tipo triclosán, el cual, entre otros efectos, actúa rompiendo la membrana citoplasmática, y desnaturalizando e inactivando enzimas. En concordancia con esto, [Guggenheim y col., 2001, y Shapiro y col., 2002: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)], utilizando un modelo de biofilm de placa supragingival *in vitro*, reportaron que el triclosán reducía la carga microbiana total. Igualmente, [Stephen y col., 1990, y Svatun y col., 1993: Citado por Baehni y Takeuchi (2003)], demostraron bajo experimentos clínicos que las pastas dentales que contienen triclosán y citrato de zinc, reducen significativamente la placa y la gingivitis.

Debido al objetivo central del presente trabajo, el cual era obtener elementos o sustancias fundamentadas que produjeran inhibición en la adherencia bacteriana, cabe acotar que en 1999, M. Matsumoto y col., evaluaron los efectos inhibitorios del extracto de té oolong en las propiedades de *S. mutans* para inducir la caries dental. Estos investigadores demostraron que esta sustancia natural, redujo *in vitro* la cantidad de producción de ácidos por *S. mutans*, retrasó la velocidad de crecimiento de

dicha bacteria, y disminuyó la hidrofobicidad de la superficie celular de los estreptococos bucales involucrados en el estudio, recordando que la hidrofobicidad celular, es uno de los principales factores para que la bacteria bucal pueda adherirse a la superficie dentaria.

Los profesionales de la Odontología coinciden, en que el cepillado dentario con un dentífrico adecuado, y al menos dos veces al día, constituye un método idóneo para la eliminación mecánica de la placa dental, incluyendo además, el hilo dental para eliminar la placa proximal. En referencia a este punto, J. Yang y col., (2001), realizaron un estudio comparativo para evaluar la coadhesión y remoción de las bacterias adheridas a la película adquirida, por medio de tres diferentes modelos de cepillado, que incluía el cepillado manual, el cepillado con ultrasonido y el cepillado eléctrico, en presencia o ausencia de lactosa o fluoruro. Las bacterias involucradas fueron *Actinomyces* y *Streptococcus*. Los resultados de este estudio arrojaron que el cepillado con ultrasonido favoreció la inhibición de la adhesión bacteriana en más del 94%. De la misma forma, se demostró que la lactosa tendría un efecto favorable en la remoción por medio del cepillado de grandes agregados

formados por parejas de bacterias coadheridas, dicho efecto podría ser el resultado de la disolución de los puentes de calcio.

Dentro de las sales de metales pesados citadas por Liébana (2002), para el control microbiológico de las placas dentales, se encuentra el fluoruro de estaño, por su acción fundamentalmente oxidante. En concordancia con esto, J. V. Embleton y col., (2001), analizaron la inhibición de la amina y los fluoruros de estaño sobre la adhesión de *Streptococcus sanguis*, siendo este un colonizador primario del esmalte limpio, concluyendo que el fluoruro de estaño inhibió la adhesión de *S. sanguis* de manera importante.

En línea general, poder lograr la inhibición de la adherencia bacteriana en el proceso de formación de la placa dental supragingival, representa una gran repercusión en la caries dental como enfermedad. Nuevos estudios aparecen para desarrollar importantes estrategias antiplaca y antibiofilm, involucrando fórmulas altamente eficientes que incluyan bactericidas con antiadhesivos.

21. CONCLUSIONES

- *S. mutans* y *S. sobrinus* fueron detectados sobre el 64% de las lesiones iniciales de caries de mancha blanca.
- Dentro del mecanismo de acción de la clorhexidina, destaca su actividad antiadhesiva a superficies epiteliales y dentales.
- El xilitol, el extracto de te Oolong, las soluciones limpiadoras para prótesis, el funoran y la resina compuesta (Novaron), son compuestos que producen efectos inhibitorios contra *S. mutans*.
- El aumento en la concentración del fluoruro de amina y clorhexidina, disminuyó la viabilidad de *S. sobrinus*.
- El fluoruro y el cloruro de amina tienen un efecto inhibitorio en la actividad de las glucosiltransferasas.
- Tres enjuagues bucales diarios con fluoruro y xilitol, no afectan la velocidad de flujo salival, ni la acumulación de placa dental.
- El fluoruro de estaño, el agente antiséptico (Octenisept), el extracto de te Oolong, las soluciones limpiadoras para prótesis y el cepillado con ultrasonido, son elementos que favorecen la inhibición de la adhesión bacteriana.

22. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Glickman, Irving. Periodontología Clínica. Cuarta Edición. Interamericana. 1974. Capítulo 22: 284-289.
2. Lindhe John. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Tercera Edición. Editorial Médica Panamericana. 2000. Capítulo 3: 102-103.
3. Seif R. Tomás. Cariología. Prevención, Diagnóstico y Tratamiento contemporáneo de la caries dental. Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica, C. A. Primera Edición. 1997. Capítulo 2: 37-43.
4. Marsh Ph. Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. Dent Clin North Am 1999; 43 (4): 599-614.
5. J. Liébana Ureña. Microbiología Oral. 2^{da} Edición. McGraw-Hill. Interamericana. 2002. Capítulo 54. Página: 561.
6. Marsh Philip, Martin Michael V. Oral Microbiology. Fourth Edition. 1999. Chapter 5: 58-70.
7. Katz, Simon. Mc Donald Jr, James L. Stookey, George K. Odontología Preventiva en Acción. Tercera Edición. Editorial Médica Panamericana. 1982. Capítulo 6: 81-83.
8. Fisiopatología de la caries dental. Universidad Nacional de Colombia (2002).
<http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/odontologia/52335/capitulos/cap2/221.html>
9. W. G. Shafer. B. M. Levy. Tratado de Patología Bucal. Cuarta Edición. Interamericana. 1988. Capítulo 7: 422-424.

10. J. Liébana Ureña. Microbiología Oral. 2^{da} Edición. McGraw-Hill. Interamericana. 2002. Capítulo 51: 516-525.
11. Newman Michael G., Takei Henry H., Carranza Fermin A. Clinical Periodontology. Ninth Edition. W. B. Saunders Company. 2000. Chapter 6: 97-101.
12. J. Liébana Ureña. Microbiología Oral. 2^{da} Edición. McGraw-Hill. Interamericana. 2002. Capítulo 53: 541-558.
13. Marsh Philip, Martin Michael V. Oral Microbiology. Fourth Edition. 1999. Chapter 4: 36-46.
14. P. D. Marsh. Oral Bacterial Ecology: The Molecular Basis. Horizon Scientific Press, Wymondham, U. K. 2000. Chapter 1: 42-50.
15. J. Liébana Ureña. Microbiología Oral. 2^{da} Edición. McGraw-Hill. Interamericana. 2002. Capítulo 18: 177-182.
16. J. Liébana Ureña. Microbiología Oral. 2^{da} Edición. McGraw-Hill. Interamericana. 2002. Capítulo 52: 529-531.
17. K.K. Mäkinen, K. P. Isotupa, T. Kivilompolo, P. L. Mäkinen, J. Toivanen, E. Söderling. Comparison of Erythritol and Xylitol Saliva Stimulants in the Control of Dental Plaque and Mutans Streptococci. Caries Research 2001; 35: 129-135.
18. S. Shani, M. Friedman, D. Steinberg. The Anticariogenic Effect of Amine Fluorides on *Streptococcus sobrinus* and Glucosyltransferase in Biofilms. Caries Research 2000; 34: 260-267.
19. M Tanagawa, K. Yoshida, S. Matsumoto, T. Yamada, M. Atsuta. Inhibitory Effect of Antibacterial Resin Composite against *Streptococcus mutans*. Caries Research 1999; 33: 366-371.

20. E. Giertsen, H. Emberland, A. Aa. Scheie. Effects of Mouth Rinses with Xylitol and Fluoride on Dental Plaque and Saliva. *Caries Research* 1999; 33: 23-31.
21. S. Twetman, L. G. Petersson. Comparison of the Efficacy of Three Different Chlorhexidine Preparations in Decreasing the Levels of Mutans Streptococci in Saliva and Interdental Plaque. *Caries Research* 1998; 32: 113-118.
22. P. C. Baehni, Y. Takeuchi. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Diseases* (2003) 9 (Suppl. I), 23-29.
23. M. Matsumoto, T. Minami, H. Sasaki, S. Sobue, S. Hamada, T. Ooshima. Inhibitory Effects of Oolong Tea Extract on Caries-Inducing Properties of Mutans Streptococci. *Caries Research* 1999; 33: 441-445.
24. J. Yang, R. Bos, G. F. Belder, H. J. Brusscher. Co-adhesion and removal of adhering bacteria from salivary pellicles by three different modes of brushing. *European Journal of Oral Sciences*. 2001; 109: 325-329.
25. Y. H. Guan, D.L. Lath, T. de Graaf, T. H. Lilley, A. H. Brook. Moderation of oral bacterial adhesión on saliva-coated hydroxyapatite by polyaspartate. *Journal of Applied Microbiology* 2003, 94, 456-461.
26. S. M. Colby, R. E. McLaughlin, J. J. Ferretti, R. R. B. Russell. Effect of inactivation of gtf genes on adherence of *Streptococcus downei*. *Oral Microbiol Immunol* 1999; 14: 27-32.
27. J. V. Embleton, H. N. Newman, M. Wilson. Amine and tin fluoride inhibition of *Streptococcus sanguis* adhesion under continuous flow. *Oral Microbiol Immunol* 2001; 16: 182-184.

28. Decker E. M., Weiger R., Wiech I., Heide P. E., Brex M. Comparison of antiadhesive and antibacterial effects of antiseptics on *Streptococcus sanguinis*. European Journal of Oral Sciences 2003; 111: 144-148.
29. T. D. Morgan, M. Wilson. Anti-adhesive and antibacterial properties of a proprietary denture cleanser. Journal of Applied Microbiology 2000, 89, 617-623.
30. Universitas Scientiarum. Revista de la Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Vol. 8. Nº 2: 69-74 (Julio-Diciembre 2003).
www.javeriana.edu.co/universitas_scientiarum/scientiarum%20vol%208%20n%202/resu%2011.pdf
31. M. J. M. Schaeken, H. J. A. Beckers, J. S. vander Hoeven. Effect of Chlorhexidine Varnish on *Actinomyces naeslundii* Genospecies in Plaque from Dental Fissures. Caries Research 1996; 30: 40-44.
32. J. A. Cury, M. A. B. Rebello, A. A. Del Bel Cury. In situ Relationship between Sucrose Exposure and the Composition of Dental Plaque. Caries Research 1997; 31: 356-360.
33. Yoji Saeki, Tetsuo Kato, Yuko Naito, Ichiro Takazoe, Katsuji Okuda. Inhibitory Effects of Funoran on the Adherence and Colonization of Mutans Streptococci. Caries Research 1996; 30: 119-125.
34. W. A. Bonass, S. J. Brookes, L. Kusa, H. Nakagaki, K. Kato, B. Nattress "et al". A Method for the Quantitative Site-Specific Study of the Biochemistry within Dental Plaque Biofilms Formed in vivo. Caries Research 1997; 31: 194-200.

35. J. A. Cury, M. A. B. Rebello, A. A. Del Bel Cury, M. T. V. C. Derbyshire, C. P. M. Tabchoury. Biochemical Composition and Cariogenicity of Dental Plaque Formed in the Presence of Sucrose or Glucose and Fructose. *Caries Research* 2000; 34: 491-497.
36. K. G. Babaahmady, S. J. Challacombe, P. D. Marsh, H. N. Newman. Ecological Study of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus* spp. at Sub-Sites from Approximal Dental Plaque from Children. *Caries Research* 1998; 32: 51-58.

