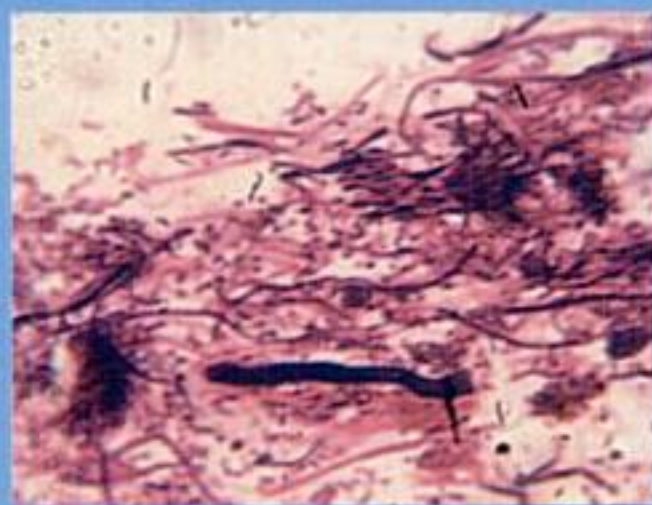


Negroni

Microbiología Estomatológica

*Fundamentos
y guía práctica*

2ª EDICIÓN



EDITORIAL MEDICA
panamericana

Los editores han hecho todos los esfuerzos para localizar a los poseedores del copyright del material fuente utilizado. Si inadvertidamente hubieran omitido alguno, con gusto harán los arreglos necesarios en la primera oportunidad que se les presente para tal fin.

Gracias por comprar el original. Este libro es producto del esfuerzo de profesionales como usted, o de sus profesores, si usted es estudiante. Tenga en cuenta que fotocopiarlo es una falta de respeto hacia ellos y un robo de sus derechos intelectuales.

Las ciencias de la salud están en permanente cambio. A medida que las nuevas investigaciones y la experiencia clínica amplían nuestro conocimiento, se requieren modificaciones en las modalidades terapéuticas y en los tratamientos farmacológicos. Los autores de esta obra han verificado toda la información con fuentes confiables para asegurarse de que ésta sea completa y acorde con los estándares aceptados en el momento de la publicación. Sin embargo, en vista de la posibilidad de un error humano o de cambios en las ciencias de la salud, ni los autores, ni la editorial o cualquier otra persona implicada en la preparación o la publicación de este trabajo, garantizan que la totalidad de la información aquí contenida sea exacta o completa y no se responsabilizan por errores u omisiones o por los resultados obtenidos del uso de esta información. Se aconseja a los lectores confirmarla con otras fuentes. Por ejemplo, y en particular, se recomienda a los lectores revisar el prospecto de cada fármaco que planean administrar para cerciorarse de que la información contenida en este libro sea correcta y que no se hayan producido cambios en las dosis sugeridas o en las contraindicaciones para su administración. Esta recomendación cobra especial importancia con relación a fármacos nuevos o de uso infrecuente.



Visite nuestra página web:

<http://www.medicapanamericana.com>

ARGENTINA

Marcelo T. de Alvear 2145

(C1122AAG) Buenos Aires, Argentina

Tel.: (54-11) 4821-5520 / 2066 / Fax (54-11) 4821-1214

e-mail: info@medicapanamericana.com

COLOMBIA

Carrera 7a A N° 69-19 - Santa Fe de Bogotá D.C., Colombia

Tel.: (57-1) 345-4508 / 314-5014 / Fax: (57-1) 314-5015 / 345-0019

e-mail: infomp@medicapanamericana.com.co

ESPAÑA

Alberto Alcocer 24, 6ª (28036) - Madrid, España

Tel.: (34) 91-1317800 / Fax: (34) 91-1317805 / (34) 91-4570919

e-mail: info@medicapanamericana.es

MÉXICO

Hegel N° 141, 2° piso

Colonia Chapultepec Morales

Delegación Miguel Hidalgo - C.P. 11570 - México D.F.

Tel.: (52-55) 5250-0664 / 5262-9470 / Fax: (52-55) 2624-2827

e-mail: infomp@medicapanamericana.com.mx

VENEZUELA

Edificio Polar, Torre Oeste, Piso 6, Of. 6 C

Plaza Venezuela, Urbanización Los Caobos,

Parroquia El Recreo, Municipio Libertador, Caracas

Depto. Capital, Venezuela

Tel.: (58-212) 793-2857/6906/5985/1666 Fax: (58-212) 793-5885

e-mail: info@medicapanamericana.com.ve

ISBN: 978-950-06-1584-6

IMPRESO EN LA ARGENTINA



Hecho el depósito que dispone la ley 11.723.

Todos los derechos reservados.

Este libro o cualquiera de sus partes no podrán ser reproducidos ni archivados en sistemas recuperables, ni transmitidos en ninguna forma o por ningún medio, ya sean mecánicos o electrónicos, fotocopiadoras, grabaciones o cualquier otro, sin el permiso previo de Editorial Médica Panamericana S.A.

© 2009. EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA S.A.
Marcelo T. de Alvear 2145 - Buenos Aires - Argentina

Esta edición se terminó de imprimir y encuadernar en el mes de enero de 2009 en los talleres de Compañía Gráfica Internacional S.A. Agustín de Vedia 2948, Buenos Aires. Argentina

Negróni, Marta

Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. - 2a ed. - Buenos Aires: Médica Panamericana.

656 p.; 25×18 cm.

ISBN 978-950-06-1584-6

I. Odontología. Microbiología. I. Título
CDD 617.6

Colaboradores

Carlos Aceto

Doctor en Odontología
Profesor Adjunto de la Cátedra de Microbiología y Parasitología la Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires

Celia Mercedes Alpuche Aranda

Doctora en Medicina
Profesora Titular ATC. Laboratorio de Infectología y Microbiología Medicina Experimental. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Hospital General de México

María Isabel Bernat

Doctora en Odontología
Especialista en Periodoncia
Profesora Adjunta de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires

Pablo Bonvehí

Médico Infectólogo
Master en Epidemiología del SIDA y Salud Pública de la Miami University, USA
Jefe de la Sección Infectología del Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Norberto Quirno" (CEMIC)
Coordinador del Instituto Universitario CEMIC (IUC), Buenos Aires

Susana Carnovale

Bioquímica. Especialista en Bacteriología Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.
Jefa de Trabajos Prácticos. Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.
Profesora Asociada a cargo. Cátedra de Microbiología. Facultad de Medicina, Universidad Abierta Interamericana

María del Carmen Domenech

Doctora en Odontología
Ex Jefa de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.
Docente de la Carrera de Posgrado "Especialización en Bioquímica Clínica. Área Bacteriología", Universidad de Buenos Aires

María Inés González

Odontóloga
Especialista en Odontopediatría
Jefa de Trabajos Prácticos de la Cátedra de

Microbiología de la Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.
Docente Autorizada de la Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.
Tesis Doctoral en Virología, Universidad de Buenos Aires.
Ex Odontóloga del Hospital Municipal de Odontología Infantil "Benito Quinquela Martín"

Kumiko Eiguchi

Doctora en Medicina. Especialista en Alergia e Inmunología
Profesora Titular de Bioquímica e Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad del Salvador (USAL).
Profesora Titular de Inmunología de la Facultad de Ciencias Biomédicas de la Universidad Austral.
Médica Inmunóloga del Hospital Alemán e Instituto Argentino de Alergia e Inmunología.
Ex Profesora Equiparable a Titular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires, plan B

José Francisco Leucowicz

Médico
Ex Docente de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires.
Ex Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Microbiología. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires
Ex Docente de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Abierta Interamericana

María del Carmen Manto

Doctora en Odontología
Profesora Adjunta de la Cátedra de Microbiología y Parasitología. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.
Profesora Adjunta de la Cátedra de Microbiología I de la Escuela de Odontología de la Universidad del Salvador (USAL).

Mabel Marcantoni

Doctora en Odontología
Ex Jefa de Trabajos prácticos y Profesora Adjunta ad honorem de la Cátedra de Microbiología y Parasitología. Facultad de odontología, Universidad de Buenos Aires.
Profesora Titular de la Cátedra de Microbiología y de la Cátedra de Articulación Docente Asistencial (ADA) de la Facultad de Odontología de la Universidad Maimónides.
Ex Jefa de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Patología y Clínica Bucodental 1^{er} Curso,

Universidad de Buenos Aires
Ex Profesora Adjunta Interina de la Cátedra de Patología y Clínica Bucodental 1^{er} Curso, Universidad de Buenos Aires

Luis Massotti Romano

Médico Pediatra
Pediatra Infectólogo del Hospital Infantil de México "Federico Gómez"

Susana Molgatini

Doctora en Odontología
Especialista en Micología Oral
Profesora Adjunta de la Cátedra de Microbiología. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires

Marta Negroni

Doctora en Odontología. Especialista en Periodoncia
Académica de Número de la Academia Nacional de Odontología
Académica Correspondiente de la Academia de Ciencias Médicas de Córdoba
Ex jefa de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Microbiología. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires
Ex Profesora Titular de Microbiología y Parasitología. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires
Profesora Consulta Titular de Microbiología. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires

Ricardo Negroni

Doctor en Medicina
Ex Jefe de la Unidad Micología del Hospital de Infecciosas "Francisco. J. Muñiz"
Ex Profesor Titular de Microbiología. Facultad de Medicina, Universidad Del Salvador (USAL).
Ex Profesor Adjunto de Microbiología. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.
Ex Director del Centro de Micología de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Susana Piovano

Doctora en Odontología
Ex Profesora Adjunta de la Cátedra de Microbiología y Parasitología. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires
Ex Profesora Titular de Microbiología. Facultad de Odontología, Universidad de la Plata.
Ex Profesora Titular de Diagnóstico I. Facultad de Odontología, Universidad Maimónides.
Profesora Titular de la Cátedra de Preventiva. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires

María Rosa Ramella †

Doctora en Odontología
Ex Profesora Adjunta de la Cátedra de Microbiología y Parasitología. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires
Ex Profesora a cargo de Microbiología de la Escuela de Odontología de la Universidad del Salvador

Alcira C. Rosa

Doctora en Odontología
Especialista en Ortopedia de los Maxilares
Profesora Titular de la Cátedra de Microbiología y Parasitología. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires
Consultora Internacional en Bioseguridad Odontológica, Universidad de Buenos Aires

Norberto Sanjuán

Doctor en Medicina
Director, Profesor Adjunto y Jefe del Laboratorio de Patología Experimental del Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.
Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

Luis Somaglia

Doctor en Odontología
Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Microbiología. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.
Profesor Adjunto de la Cátedra de Microbiología III de la Escuela de Odontología de la Universidad del Salvador (USAL).
Profesor Titular de la Cátedra de Bioseguridad para la Especialidad de Ortodoncia y Ortopedia de la Fundación Monti, Universidad de Morón

Liliana Turcot

Doctora en Odontología
Especialista en Periodoncia
Profesora Adjunta de la Cátedra de Microbiología. Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires
Profesora Adjunta de la Cátedra de Microbiología II de la Escuela de Odontología de la Universidad Del Salvador (USAL)

Jorge Antonio Yáñez Santos

Doctor en Odontología
Jefe del laboratorio de Investigación en Microbiología Oral
Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México

Dedicatoria

A mi esposo, hijos, hijos políticos, nietos y a toda mi familia, fuente de satisfacción, orgullo e inagotable cariño. También les pido disculpas por si no compartí más momentos con ellos.

A la memoria de la desaparecida, prematuramente,
Dra. María Rosa Ramella.

Prefacio

Ha sido para mí un gran placer emprender la tarea de escribir esta segunda edición. Cuando me aboqué a redactar la primera, lo hice con la intención de que los alumnos de la Facultad contaran con un texto que reuniera todos los temas incluidos en la enseñanza de esta disciplina, especialmente en nuestro país; nunca supuse que la obra traspasaría las fronteras.

Sin duda era una cuestión pendiente. La bibliografía en inglés es demasiado amplia. Lamentablemente, si bien los hispanohablantes alcanzamos un número muy elevado, no ocurre lo mismo con la bibliografía en nuestro idioma.

Creo, además, que el éxito obtenido con la primera edición se debe a que no sólo he sido docente de la asignatura durante muchísimos años, sino que también he actuado en la parte asistencial, lo que me ha permitido volcar en el texto algunas valiosas experiencias personales.

En esta edición se han introducido algunas novedades: se incluyeron capítulos de genética bacteriana y de diagnóstico por biología molecular, temas de candente actualidad y que han revolucionado las ubicaciones taxonómicas de los microorganismos, así como métodos de diagnóstico y acciones terapéuticas. Como en la edición anterior, no se ha dado el mismo tratamiento a todos los temas. A los más relacionados con el ámbito bucal o en los cuales se produjeron mayores novedades se les otorga un espacio más amplio. No obstante, en el resumen el lector encontrará lo necesario, de acuerdo con sus aspiraciones.

En el prefacio de la edición anterior señalé que es cada vez más imperioso estar actualizado, no sólo como anhelo personal sino en función de un mejor servicio a la comunidad. Se sabe que hay patógenos emergentes y patógenos nuevos, como ocurre con la gripe aviar y el SARS. Estas enfermedades no se abordan en este texto porque no son patologías que se desarrollen en el ámbito bucal; empero, no se puede estar ajeno a que la boca forma parte del organismo. Tampoco se tratan todas las

patologías infecciosas, pero si se adquiere el hábito de estudiar racionalmente una enfermedad infecciosa es posible aplicar ese proceso a otras situaciones.

A través de las explicaciones de algunas enfermedades infecciosas, el estudiante se va a familiarizar con lo que es más importante saber sobre ellas, como el tipo de microorganismo que las origina; cuál es la fuente de infección; el mecanismo de transmisión; si hay o no reservorios; la sensibilidad del germen a los distintos antimicrobianos; si la enfermedad tiene distribución en algún área específica; cuáles son, si es que las hay, las causas predisponentes; los síntomas principales y algunas nociones de diagnóstico y tratamiento; si se parece o qué tienen en común con otras patologías y, lo más importante, si hay medidas preventivas útiles.

Como novedad se han incluido, en algunos temas, pequeños problemas y en otros, casos clínicos con el objetivo de que el lector se entrene en el razonamiento. No estoy ajena a que la microbiología abunda en nombres difíciles de retener, pero si se estudia razonadamente es más fácil relacionarlos con las características del microbio o de la enfermedad y tener así una guía que simplifica su memorización.

Las partes generales son más tediosas que las aplicadas, pero así como no se puede construir un edificio sin cimientos en el aprendizaje hay que ir de lo básico a lo aplicado.

En estos años, la implantología o la colocación de implantes ha concitado la atención de los odontólogos y de los pacientes. Pero, ¿se pueden realizar maniobras invasivas en un ambiente plagado de microorganismos sin conocer el ecosistema bucal o sin tener en cuenta el organismo en su totalidad?

Quedan planteadas estas preguntas y apelo a la conciencia de cada uno.

Deseo para esta nueva edición el éxito de la primera. Si esto se logra será, además, gracias a la valiosa colaboración de todos los colegas que han participado desinteresadamente en ella.

Quiero incluir en esta presentación unos conceptos que me ha hecho llegar el Profesor Dr. Norberto Sanjuán para el capítulo de virosis, y que me parecen aplicables a todo el contenido del texto, por lo que me he permitido extractarlos y cambiarlos de ubicación:

“Muchas veces, en la actividad cotidiana con los estudiantes universitarios, los docentes nos encontramos con que se preguntan ‘¿para qué sirve esto?’ cuando tienen que abordar un tema que más adelante les será evaluado.

“Esa pregunta es válida, de alguna manera, por la gran cantidad de contenidos que deben retener para rendir las diferentes asignaturas. Pero también es un cuestionamiento simplista.

“El odontólogo no es sólo un profesional con una tarea acotada y predeterminada sino, además, un agente de salud en el sentido amplio del término. Por consiguiente, debe conocer aspectos de las enfermedades transmisibles que quizá no están directamente rela-

cionados con su práctica diaria, pero que, en países como los nuestros, sobre todo en las zonas más alejadas de los centros de salud altamente especializados, son indispensables para el mejoramiento de las condiciones de vida de la población. Es en ese momento cuando tiene que orientar a sus pacientes, educarlos y derivarlos al profesional especializado, sin permanecer al margen de las necesidades sociales. Para lograr esto debe tener los conocimientos adecuados.

“Son muchas las veces en que las lesiones observables en la boca son las primeras para indicar un posible diagnóstico que involucra el completo estado de salud del enfermo”.

El lector, en varios capítulos, encontrará aspectos que justifican estas reflexiones.

Por último, deseo expresar mi agradecimiento al personal de Editorial Médica Panamericana, por su profesionalidad.

Marta Negroni

Índice

Prólogo 1	ix	1ra. Parte. Generalidades	77
Prólogo 2	xi	2da Parte. Metabolismo fúngico. Acciones patógenas de los hongos	87
Prefacio	xiii	SECCIÓN 4. Parasitología	93
PARTE I. GENERALIDADES DE MICROBIOLOGÍA	1	10. Parásitos: generalidades	95
1. Introducción a la microbiología	3	<i>Marta Negroni</i>	
<i>Marta Negroni</i>		SECCIÓN 5. Acción de los agentes físicos químicos y físicos.	105
SECCIÓN 1. Bacteriología	9	11. Agentes químicos. Antisépticos y desinfectantes	107
2. Morfología bacteriana	11	<i>Alcira C. Rosa y María Inés González</i>	
<i>Marta Negroni</i>		12. Antimicrobianos, antimicóticos, antiparasitarios y antivirales	123
3. Célula bacteriana	17	<i>Marta Negroni</i>	
<i>Marta Negroni</i>		13. Agentes físicos para el control de los microorganismos	133
4. Mollicutes	31	<i>Alcira C. Rosa y María Inés González</i>	
<i>Marta Negroni , Liliana Turcot y Luis Somaglia</i>		PARTE II. INMUNOLOGÍA	147
5. Rickettsias, clamidias y nanobacterias	37	14. Generalidades sobre la inmunidad e inmunidad innata	149
<i>Marta Negroni, Liliana Turcot y Luis Somaglia</i>		<i>Kumiko Eiguchi</i>	
1ra. Parte. Rickettsias y clamidias	37	15. Inmunidad específica, adaptativa o adquirida	165
2da Parte. Nanobacterias	43	1º Parte. Organos linfoides. Anticuerpos. Inmunoglobulinas. Linfocitos B y T, Células presentadoras de antígenos	165
<i>Luis Somaglia</i>		2º Parte. Respuesta inmune	185
6. Crecimiento, nutrición y metabolismo bacteriano	45	<i>Kumiko Eiguchi</i>	
<i>Marta Negroni</i>		16. Respuesta inmune alterada	197
7. Genética bacteriana	55	17. Relación agente infectante-hospedador	213
<i>Cecilia M. Alpuche Aranda y Luis Romano Massotti</i>		<i>Marta Negroni</i>	
SECCIÓN 2. Virología	63		
8. Virus: generalidades	65		
<i>Marta Negroni</i>			
SECCIÓN 3. Micología	75		
9. Hongos	77		
<i>Ricardo Negroni</i>			

PARTE III. MICROBIOLOGÍA BUCAL	223	1º Parte. Estreptococos	347
18. Ecología de la cavidad bucal	225	2º Parte. Estafilococos	353
<i>Mabel Marcantoni</i>		3º Parte. <i>Neisseria</i> y bacterias relacionadas	359
19. Caries dental. Antimicrobianos y vacunas para su control	247	4º Parte. Micobacterias	365
<i>Mabel Marcantoni</i>		<i>Marta Negroni y María del Carmen Domenech</i>	
1º parte. Caries dental	247	5º Parte. Espiroquetas	373
2º parte. Antimicrobianos y vacunas para la prevención de las caries dental	263	6º Parte. <i>Corynebacterium</i>	379
20. Microbiología de las enfermedades gíngivoperiodontal, de la periimplantitis, de los conductos radiculares y de los procesos perirradiculares	275	7º Parte. Bacilos grampositivos esporulados	383
<i>Susana Piovano</i>		8º Parte. Enterobacterias y otras bacterias gramnegativas	389
1º Parte. Microbiología de las enfermedades gíngivoperiodontales	275	24. Enfermedades micóticas	399
2º Parte. Antimicrobianos locales y sistémicos en el tratamiento de las diferentes formas clínicas de enfermedad periodontal	299	<i>Marta Negroni</i>	
3º Parte. Microbiología e implantes	313	1º Parte. Candidosis	399
4º Parte. Microbiología pulpar y perirradicular	319	2º Parte. Histoplasmosis	405
21. Familia <i>Actinomycetaceae</i> y actinomicosis	329	3º Parte. Paracoccidioidomicosis	409
<i>Marta Negroni</i>		4º Parte. Criptococosis	413
22. Complicaciones sistémicas por la microbiota bucal	337	25. Infecciones virales	419
<i>Marta Negroni</i>		<i>María Rosa Ramella, María Inés González y Norberto Sanjuán</i>	
PARTE IV. ENFERMEDADES INFECCIOSAS CON MANIFESTACIONES BUCALES, PERIBUCALES O DE INTERÉS PROFESIONAL	345	1º Parte. Virus herpes	419
		2º Parte. Virus papiloma Humano (HPV)	433
23. Enfermedades bacterianas	347	3º Parte. Hepatitis	439
<i>Marta Negroni</i>		4º Parte. Virus de la inmunodeficiencia humana	449
		5º Parte. Fiebre hemorrágica argentina	455
		26. Enfermedades de etiología parasitaria	459
		<i>Marta Negroni y Carlos Aceto</i>	
		1º Parte. Leishmaniasis	459

2° Parte. Toxoplasmosis	465	31. Guía práctica	525
3° Parte. Enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana	471	1° Parte. Normas de trabajo e instrumental básico del laboratorio microbiológico	525
4° Parte. Paludismo	475	<i>Susana Molgatini y María del Carmen Manto</i>	
5° Parte. Miasis	479	2° Parte. Microscopia	533
PARTE V. MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA APLICADA DE INTERÉS ODONTOLÓGICO	483	3° Parte. Métodos de observación de los microorganismos	543
27. Guía para la obtención de muestras en el consultorio odontológico	485	4° Parte. Medios de cultivo, y siembra	551
<i>Marta Negroni</i>		5° Parte. Pruebas de sensibilidad in vitro a los agentes antimicrobianos	561
28. Diagnóstico molecular	493	6° Parte. Reacciones inmunológicas	573
1° Parte. Técnicas moleculares	493	<i>Susana Molgatini, María del Carmen Manto y José Lewkowicz</i>	
<i>Susana Carnovale</i>		7° Parte. Tratamiento del instrumental recuperable y materiales de un solo uso utilizados en la práctica odontológica	595
2° Parte. Biología molecular en Odontología. Biología molecular de <i>Streptococcus mutans</i>	501	<i>Alcira Rosa, Susana Molgatini, María del Carmen Manto y María Inés González</i>	
<i>Jorge Antonio Yáñez Santos</i>		PARTE VII. APÉNDICE	609
29. Medidas aconsejadas para lograr bioseguridad en la práctica odontológica	507	32. Lista de acontecimientos históricos importantes para la evolución de la microbiología general y estomatológica	611
<i>Marta Negroni</i>		<i>María Isabel Bernat y Liliana Turcot</i>	
30 Aplicaciones de la inmunología. Inmunoprofilaxis	513	Respuestas de los problemas	615
<i>Marta Negroni y Pablo Bonvehí</i>		Índice analítico	629
PARTE VI. GUÍA DE TRABAJOS PRÁCTICOS	523		



PARTE I

GENERALIDADES DE MICROBIOLOGÍA

Marta Negroni

Contenidos

Microbiología. Definición y alcances. Hábitat de los microorganismos. Ubicación de los microorganismos en la naturaleza. Ubicación de los seres vivos. Virus: concepto. Disciplinas que abarca la microbiología. Nociones de sistemática bacteriana. Unidades de medida de los microorganismos. Acciones de los microorganismos. Importancia de la microbiología y su relación con las demás ciencias odontológicas.

Objetivos

- Describir la ubicación de los microorganismos en la naturaleza.
- Enumerar y definir las distintas disciplinas de las que se ocupa la microbiología.
- Citar las acciones de los organismos. Enumerar cuatro de ellas.
- Mencionar cómo se designan los microorganismos.
- Nombrar ciencias odontológicas relacionadas con microbiología.

MICROBIOLOGÍA

Definición y alcances

Hay evidencias que permiten afirmar que existen rastros de bacterias, en la tierra, desde el período precámbrico, o sea, 3.300 millones de años atrás. Sin embargo, la ciencia que se ocupa del estudio de estos organismos es relativamente nueva en comparación con ese período.

El término **microbiología** (de *micro-* = pequeño, *bíos* = vida y *logos* = estudio o tratado) fue acuñado por el sabio francés Louis Pasteur (1822-1895), para incluir el estudio de los organismos que sólo eran visibles con el auxilio del microscopio (véase cap. 31 segunda parte) y que se designaron como microorganismos, microbios o gérmenes.

No obstante, la microbiología, que abarca el **estudio de las bacterias, los hongos, los protozoos, los virus** (a los que se han agregado algunas algas microscópicas causantes de alteraciones en humanos), en realidad había nacido doscientos años antes, con el descubrimiento de los “animálculos” por parte de Antony van Leeuwenhock, que los visualizó en el material tomado de su boca (véase cap. 31 segunda parte) y que por ese motivo fue, sin saberlo, el primer microbiólogo oral.

Aunque la historia de la microbiología está tachonada de nombres ilustres y de descubrimien-

tos asombrosos, que contribuyeron a brindar importantes jalones a esta ciencia, no es la finalidad de este texto profundizar en esos aspectos, de modo que el lector que desee ahondar en este tema deberá hacerlo en otras fuentes o remitirse a la lista de descubrimientos que figura en el capítulo 32.

Hábitat de los microorganismos

Como se mencionó mas arriba, se considera que su origen se remonta a unos cuatro billones de años y se cree que fueron las formas vivientes más primitivas.

Entre los miles y miles de seres microscópicos que existen algunos viven en la tierra y otros habitan en las aguas o en los vegetales, o forman parte de la biota normal de los organismos superiores. Recientemente se anunció que se descubrieron bacterias a tres kilómetros de profundidad, en la tierra, sin contacto con el exterior y que estarían viables. Muchos se encuentran aislados, mientras que otros se agrupan en comunidades que se han dado en llamar biofilme o biopelícula, capaces de depositarse aun en superficies inertes.

Por fortuna sólo unos pocos producen daño en los animales, incluido el hombre, o en plantaciones. Estos últimos constituyen el grupo de los **microorganismos patógenos** o agentes que causan infecciones en los seres humanos, los animales

Cuadro 1-1. Clasificación de reinos

Reino <i>Procariorae</i> (reino Monera según Whittaker)	(<i>Pro-</i> = antes, primitivo, <i>káryon</i> = núcleo). Bacterias de vida libre o parasitaria que carecen de membrana nuclear. Unicelulares
Reino <i>Protista</i>	Eucariotas, con núcleo verdadero. Hongos mucosos, protozoos y algunas algas
Reino <i>Fungi</i>	Eucariotas, sólo hongos unicelulares o pluricelulares
Reino <i>Plantae</i>	Ciertas algas, musgos, helechos, coníferas y plantas sin flores
Reino <i>Animalia</i>	Abarca esponjas, gusanos, insectos y vertebrados

o las plantas. A los patógenos humanos conocidos recientemente se han sumado los patógenos "emergentes", o sea, patógenos nuevos como el virus HIV y el Hanta virus, o "reemergentes", como el virus Ebola. El grupo constituido por los gérmenes que con su metabolismo intervienen en procesos de gran utilidad es mucho más amplio.

Por lo tanto, la microbiología tiene muchas especialidades: microbiología humana (dentro de ella está la microbiología bucal u oral), animal, vegetal, industrial, alimenticia, ambiental, del suelo y muchas más.

La microbiología también se ocupa de la respuesta del organismo ante la agresión microbiana y lo hace a través de la inmunología, una rama en constante y rápido desarrollo que brinda conocimientos inapreciables para el estudio y la prevención de muchas enfermedades infecciosas, así como para el manejo de las respuestas no deseadas o "alergias".

UBICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN LA NATURALEZA

Tradicionalmente se hablaba de los reinos animal, vegetal y mineral. Con el descubrimiento de los microorganismos surgió el problema de su ubicación dentro de estos reinos y la imposibilidad de hacerlo. En 1866 el zoólogo alemán Ernst Haeckel propuso el término "protista" para los microorganismos unicelulares. Este reino comprendía los protistas inferiores con un núcleo primitivo, sin membrana nuclear o procarioras y los protistas superiores, con una organización celular más compleja y, por ende, con membrana nuclear o eucariotas.

Ubicación de los seres vivos

Como todo lo que implica nomenclatura y clasificaciones, la ubicación de los organismos fue motivo de revisiones y red denominaciones. En 1969 Robert Whittaker clasificó a estos organismos y a otros superiores en cinco reinos:

Reino *Procariorae* (*pro* = antes o primitivo; *káryon* = núcleo, reino Monera, según Whittaker). Este reino incluye distintos tipos de bacterias, sean

de vida libre o parasitaria, que carecen de membrana nuclear. Son organismos unicelulares.

Reino *Protista*. Esta designación se reserva para eucariotas (núcleo verdadero) del tipo de los hongos mucosos, los protozoos y algunas algas.

Reino *Fungi*. Este reino sólo incluye eucariotas del tipo de los hongos unicelulares o levaduriformes, pluricelulares o filamentosos y hongos carnosos.

Reino *Plantae*. Este reino está constituido por ciertas algas, musgos, helechos, coníferas y plantas sin flores.

Reino *Animalia*. Esta designación abarca esponjas, gusanos, insectos y vertebrados (cuadro 1-1).

Posteriormente se expuso otra clasificación para los microorganismos; que considera tres grupos: *Archaeobacterias*, *Eubacterias* (procarioras de la anterior) y *Eucariotas* (hongos y protozoos). Las *Archaeobacterias* difieren de las *Eubacterias* en el ácido ribonucleico ribosómico y cuando poseen pared celular, carecen de peptidoglucano (cuadro 1-2).

En 1978, Carl Woese sugirió hacer una clasificación con el rango de Dominios, que está por encima de los Reinos. Así estableció el Dominio *Eukarya*, que comprende los reinos *Animalia*, *Plantae*, *Fungi* y *Protista*. El Dominio *Bacteria* incluye bacterias patógenas, no patógenas, bacterias del agua, del suelo y las fotoautótrofas (véase cap. 6). El Dominio *Archae* se creó para los procarioras, sin peptidoglucano (véase cap. 3) que habitan en ambientes extremos (de calor y otras condiciones desfavorables) (cuadro 1-3).

Virus: concepto

Los virus no pueden ser ubicados en ninguno de estos reinos, porque poseen una estructura subce-

Cuadro 1-2. Ubicación de los microorganismos según otro criterio

Archaeobacterias	Sin interés médico. Difieren de las eubacterias en el ácido ribonucleico ribosómico y no contienen peptidoglucano en sus paredes
Eubacterias	Corresponden al reino <i>Procariorae</i>
Eucariotas	Incluyen hongos y protozoos

Cuadro 1-3. Clasificación según Woese

Dominio Eukarya	Comprende reinos <i>Animalia</i> , <i>Plantae</i> , <i>Fungi</i> , <i>Protista</i>
Dominio Bacteria	Comprende bacterias patógenas y no patógenas, del agua, del suelo y fotoautótrofas
Dominio Archae	Abarca bacterias que no contienen peptidoglucano y viven en ambientes extremos

ular de tamaño ultramicroscópico y carecen de vida propia; son **parásitos endocelulares estrictos**. Por tal motivo, sólo se desarrollan en otros seres vivos. Se conocen en la actualidad alrededor de 1550 especies.

DISCIPLINAS QUE ABARCA LA MICROBIOLOGÍA

Pese al significado etimológico del término "microbiología" esta ciencia también se ocupa del estudio de parásitos pluricelulares que pueden ser visibles sin el auxilio del microscopio. Estos parásitos son gusanos planos o cilíndricos, pero en parte de su ciclo vital se presentan como quistes u otras formas de tamaño microscópico.

En definitiva, la microbiología médica, que incluye la estomatológica, está compuesta por varias ramas que son la **bacteriología**, la **micología**, la **virología**, la **parasitología** y la **inmunología** (cuadro 1-4).

La inmunología ha aclarado en gran medida los mecanismos de los que ella se ocupa, se analizan los mediadores químicos que intervienen. Estos conocimientos han sido aprovechados para otras aplicaciones, como por ejemplo con fines diagnósticos o también en la preparación de inmunógenos.

Esta ciencia se ha desdoblado con la inclusión de la **psiconeuroinmunobiología**. En ella se relaciona la respuesta inmune del hospedante con aspectos del funcionamiento del Sistema Nervioso Central (SNC).

Cuadro 1-4. Ramas de la microbiología

La microbiología comprende	Bacteriología
	Micología
	Inmunología
	Parasitología
	Virología

La **biología molecular** ha pasado a ocupar un lugar preponderante dentro de esta especialidad, porque gracias a sus aportes es posible explicar la acción de ciertos factores de virulencia de los microorganismos, identificarlos con más certeza, establecer relaciones filogenéticas entre ellos y otras aplicaciones que se verán en otros capítulos.

A partir de lo anterior es posible afirmar que los inicios de la microbiología se deben fundamentalmente a un químico, Louis Pasteur, y que en la actualidad la química molecular brinda otro inusitado impulso a esta ciencia.

Nociones de sistemática bacteriana

De acuerdo con el científico sueco Carl von Linneus o Karl von Linné (1707-1778), los seres vivos deben recibir una **designación binominal** en latín (*Sistema naturae*, 1758); a saber, el nombre del **género** y de la **especie**. El nombre de la especie, que es el segundo, se escribe con minúscula y alude a alguna característica muy particular de ese microorganismo, o a quien lo describió por primera vez, o al lugar donde se lo encuentra, o a alguna acción que posee. El nombre del género antecede al de la especie, se escribe con mayúscula y es compartido por varias especies que poseen la misma característica a la que se refiere ese término. Esos nombres siempre deben destacarse mediante su subrayado o escribiéndolos en negrita, o en itálica o bastardilla. Por ejemplo, en el caso de *Actinomyces israelii* y *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces* significa hongo en forma de rayo (*miketos* o *myckes* = hongo; *actino* = rayos o radiado), porque se creyó que este microorganismo era un hongo y debido a su aspecto microscópico radiado, e *israelii* por Israel, que fue quien lo describió primero, en tanto que el nombre *odontolyticus* se le dio porque se lo halló en el fondo de una cavidad cariosa, o sea, diente en lisis. Puede abreviarse el nombre del género colocando sólo la inicial en mayúscula seguida del nombre de la especie, p. ej., *A. israelii*.

Los géneros que poseen similitudes constituyen **familias**, cuyo nombre debe terminar en **-aceae**, p. ej., familia *Actinomycetaceae*.

Varias familias integran un **orden**, cuyos constituyentes son individualizados por el sufijo **-ales** (p. ej., *Actinomycetales*); éstos a su vez se agrupan en una clase. También existen **divisiones**, **subórdenes**, **tribus**, **phylum**, **subphylum**, **Reinos** y **Dominios**, etc. Esto constituye el capítulo de la **sistemática**, que es algo confuso porque está en constante reubicación en la medida en que los avances técnicos permiten descubrir otras características de estos seres.

El Manual de Bergey acumula esta información y, a través de las distintas ediciones, la actualiza.

Como este tema carece de interés desde el punto de vista de la patología, el lector que desee profundizar en estos conceptos deberá consultar otros textos.

Unidades de medida de los microorganismos

Las dimensiones de los agentes infecciosos varían de acuerdo con el grupo al que pertenecen y hay patógenos microscópicos, como las bacterias, los hongos patógenos y los protozoos, que se miden en **micrómetros (μm)** (la milésima parte de un milímetro). Los gusanos y los artrópodos son visibles sin microscopio y se miden en milímetros o sus múltiplos. Los virus son submicroscópicos, sólo pueden ser visualizados con el auxilio del microscopio electrónico (véase cap. 8) y se miden en **nanómetros (nm)** (un nanómetro equivale a la millonésima parte de un milímetro).

Existe una medida aun menor, el decinánómetro, 0,1 nm, antes conocido como Angström, Å, que equivale a 1×10^{-7} mm. En cada capítulo se verán las dimensiones aproximadas de cada grupo.

Acciones de los microorganismos

Los microorganismos están ampliamente distribuidos en la naturaleza y, dado que como resultado de su desarrollo se producen diversas reacciones bioquímicas, puede decirse que **contribuyen a mantener el ecosistema ambiental** mediante su participación en ciclos, como el del carbono, el nitrógeno y otros elementos vitales.

Otros microorganismos, como ya se ha dicho, forman parte de la llamada **biota normal** de las cavidades y las superficies corporales del hombre o de los animales.

Hay microorganismos en la tierra; muchos de ellos colaboran con vegetales, favoreciendo su nutrición, aunque hay otros que les producen daños.

El estudio de los genes microbianos, por su simplicidad y rápido desarrollo de las bacterias, ha aportado las bases para iniciar los **estudios genéticos** en seres superiores.

Actualmente, la ingeniería genética utiliza los microbios con distintos fines, como por ejemplo para **producir vacunas, insulina y otros fármacos**. Lamentablemente, estos conocimientos pueden ser utilizados con fines bélicos, como se destaca con cierta frecuencia en los periódicos.

El hombre aprovecha la capacidad de algunos gérmenes para disponer de **elementos biodegradables**.

Los microorganismos constituyen una **fuentes de energía no convencional**.

Todos conocen la participación de los gérmenes en la **elaboración de diversos alimentos**, como yogur, quesos, bebidas, etc.

Sólo unos pocos microorganismos son capaces de ejercer acciones perjudiciales y, por lo tanto, se los conoce como **patógenos**. Hay patógenos humanos, patógenos para animales, de plantas y cultivos.

Importancia de la microbiología y su relación con las ciencias odontológicas

Desde el inicio del descubrimiento de los microorganismos, se los ha vinculado con la cavidad bucal. Baste recordar que Antony van Leeuwenhoek hizo el hallazgo de estos seres en su propia boca. Casi doscientos años después se los relacionó con el deterioro de las estructuras dentarias y en el siglo pasado quedó demostrada la etiología microbiana de la **caries** y las **enfermedades gingivo-periodontales**, lo que indica la íntima relación con estas disciplinas.

La microbiología requiere conocimientos de **química o bioquímica** para poder dilucidar las estructuras que componen a los microorganismos y estudiar su metabolismo, además ya se mencionó el papel de la química frente a los descubrimientos microbiológicos.

Debe conocerse la **histología, embriología y anatomía** del tejido sanguíneo, así como de los órganos linfoides para poder entender los procesos inmunitarios. Es igualmente importante tener presentes estos conocimientos para advertir el daño que produce el biofilme o biopelícula (véase caps. 19 y 20) en tejidos dentarios, periodontales y circundantes.

Sería imposible realizar el diagnóstico y el tratamiento de diversas patologías infecciosas que se asientan en la cavidad bucal, si no se contara con el apoyo del **laboratorio de microbiología y de anatomía patológica**. Este último permite detectar el tipo de respuesta de los tejidos ante una infección o el daño que en ellos produce. Por esto otra disciplina íntimamente emparentada es la **estomatología**.

Es indispensable mantener los instrumentos que se utilizan en las prácticas odontológicas libres de microorganismos. Para este fin la microbiología sienta las bases de las **técnicas de antisepsia y esterilización** y los métodos de control biológico de éstas. Por este motivo debe tenérselas **presente en todas las clínicas**.

Es un arma importante en las campañas de **prevención de patologías bucales** y ayuda en los

estudios epidemiológicos, por lo que auxilia a la **odontología preventiva**.

Los conocimientos microbiológicos ayudan a **prevenir que se produzcan infecciones cruzadas** (véase cap. 29) en los pacientes en atención odontológica.

La microbiología, hace años, era la “Cenicienta”

de la odontología; pero cada vez más los profesionales advierten que son los “médicos de la boca”; en este momento estos conocimientos están adquiriendo el protagonismo que siempre debieron tener. El organismo humano es una unidad biológica, como se verá en el capítulo 22.

Resumen

La microbiología es la ciencia que se ocupa del estudio de organismos visibles con el auxilio del microscopio, aunque esto tiene sus excepciones.

Las ramas de la microbiología son la bacteriología, la micología, la parasitología, la virología y la inmunología (cuadro 1-4).

Las bacterias carecen de membrana nuclear; los hongos y los parásitos son más complejos, poseen membrana nuclear (son eucariotas); estos últimos pueden ser unicelulares o pluricelulares. Pertenecen a los reinos *Procariotae*, *Protista*, *Fungi* o *Animalia*, según cuáles sean (cuadro 1-1).

Otros autores consideran las *Archaeobacterias*, *Eubacterias* y *Eucariotas* (cuadro 1-2). Finalmente, hoy se consideran tres Dominios. Dominio *Eukarya*, Dominio *Bacteria* y Dominio *Archae* (cuadro 1-3).

Todos los microorganismos reciben una designación binominal: nombre de género y nombre de especie.

Los gérmenes que dañan al hombre, a los animales y a las plantas se conocen como **patógenos humanos, animales o vegetales** respectivamente.

Los virus poseen una estructura subcelular y no se ubican en ningún reino; de su estudio también se ocupa la microbiología. Hay grupos importantes de microorganismos que desempeñan funciones útiles para la naturaleza.

La inmunología es la ciencia que estudia las relaciones entre los microorganismos y el hospedero en el que éstos se encuentran y también analiza la respuesta frente a otras sustancias extrañas.

La microbiología está relacionada con la periodoncia, cariología, estomatología, anatomía patológica, bioquímica, prevención y todas las especialidades con prácticas odontológicas.

Preguntas de revisión

1. ¿Podría mencionar los reinos en los que se agrupan los seres vivos?
2. ¿Podría indicar dos características del reino *Procariotae*?
3. ¿Qué tipo de microorganismos se ubican en el reino *Protista*?
4. Mencione tres características del reino *Fungi*.
5. ¿Qué dominios se consideran en la actualidad?
6. ¿Cómo se designan los microorganismos?
7. ¿Cuáles son las ramas de la microbiología médica y estomatológica?
8. Mencione las acciones beneficiosas de los microorganismos.
9. Según su criterio, ¿con qué ciencias odontológicas está más relacionada la microbiología?

BIBLIOGRAFÍA

De Torres R. Capítulo 1: Evolución de las ideas básicas en el desarrollo de la microbiología biomédica. En: *Microbiología biomédica. Bacteriología. Micología. Virología. Parasitología. Inmunología*. 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Atlante, 2006, pp. 3-32.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Introducción a la microbiología médica. En: *Microbiología médica*. 5ª ed. Madrid: Elsevier Mosby, 2006, pp. 4.

Negróni M. Capítulo 1: Introducción a la Microbiología. En:

Negróni M, *Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1999, pp. 3-6.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Chapter 10: Classification of microorganisms. In: *Microbiology. An introduction*. 8th ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2004, pp. 276-303.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. The microbial world and you. In: *Microbiology. An introduction*. 8th ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2004, pp. 1-25.

SECCIÓN 1

Bacteriología

MORFOLOGÍA BACTERIANA

Marta Negroni

Contenidos

Bacterias: características generales. Formas y agrupaciones bacterianas. Cocos. Bacilos. Formas espiraladas. Morfologías prevalentes en la cavidad bucal. Tamaño de las bacterias. Composición química de las bacterias.

Objetivos

- Identificar las formas bacterianas.
- Describir las agrupaciones de los cocos y los bacilos.
- Dibujar las distintas apariencias de los bacilos.
- Citar los tipos de microorganismos espiralados.
- Enumerar las morfologías bacterianas prevalentes en la cavidad bucal de las personas sanas.
- Citar los componentes químicos principales de la célula bacteriana.
- Citar los tamaños aproximados de las bacterias.
- Definir las características generales de las bacterias.

BACTERIAS: CARACTERÍSTICAS GENERALES

Las bacterias son microorganismos que pertenecen al reino **Procariota** de modo que presentan una estructura celular simple y sin membrana nuclear. De acuerdo con el concepto actual, son integrantes del **Dominio Bacteria**. Pueden crecer sin el auxilio de un organismo superior, por lo que se dice que son de **vida libre**. Las bacterias se reproducen por **división simple** o **fisión binaria**, lo que en algunos géneros da origen a agrupaciones características, al quedar las células unidas de determinada forma. No obstante, cada célula es fisiológicamente independiente, vale decir que las bacterias son seres **unicelulares**.

FORMAS Y AGRUPACIONES BACTERIANAS

Dentro de estas formas básicas hay variantes. Si bien las formas esféricas se denominan cocos, también responden a esta denominación morfologías arriñonadas, ovaladas o ligeramente lanceoladas.

Cocos

Según los planos del espacio en los que se produzca la división y la incapacidad de las células para separarse completamente, pueden originarse *Diplococos*, cuando la división se produce en un solo plano y quedan dos elementos; *Estreptococos*, si la división tiene lugar en un plano pero en forma sucesiva se originan cadenas. Si la división se produce en dos planos, el resultado es la *Tétrada* y cuando la división afecta los tres planos en forma ordenada, se está frente a una *Sarcina*; la forma irregular conduce a un aspecto comparable con un racimo de uvas o *Estafilococo*. Si los cocos son de tamaño más pequeño y sin agrupación especial, son *micrococos* (fig. 2-1).

Bacilos

Las formas alargadas reciben el nombre de **bacilos** (del latín, *bacillus*: bastón); cuando éstos se visualizan individualmente, pueden tener extremos redondeados y un diámetro menor bien uniforme; otros géneros muestran sus extremos afilados en forma de huso y se denominan fusi-formes. Algunos bacilos poseen una de sus terminaciones abultada en forma de clava o maza. Por

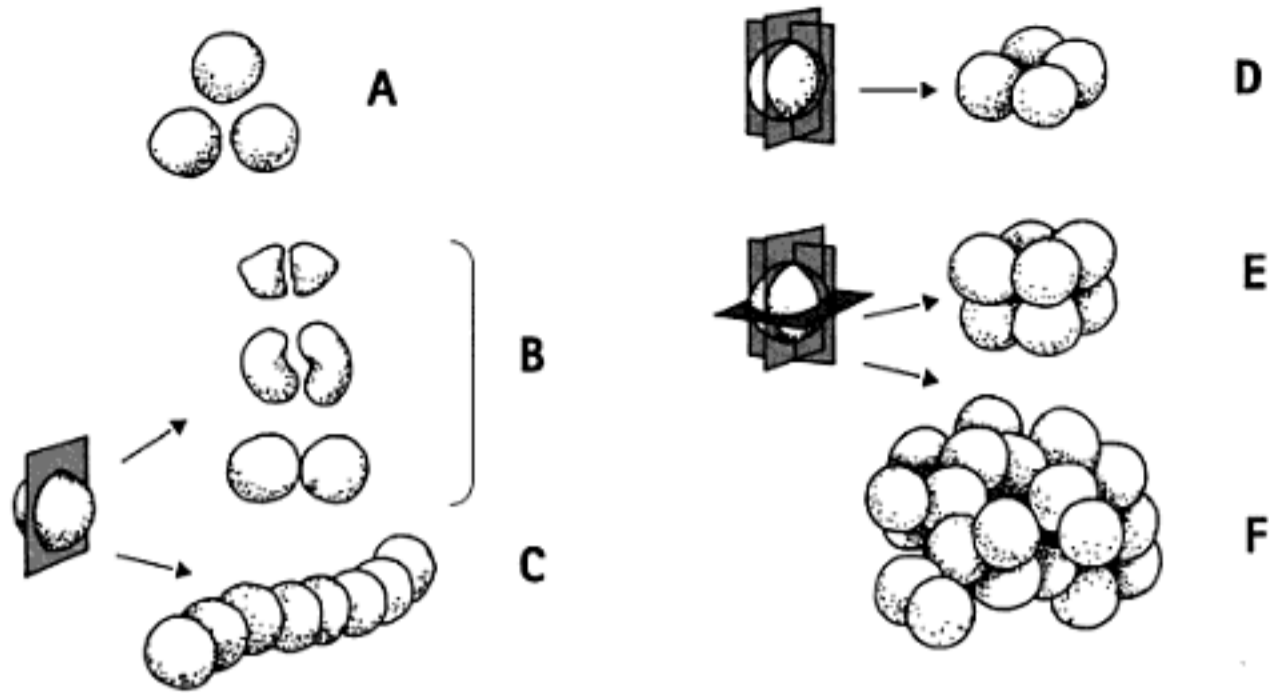


Fig. 2-1. Formas y agrupaciones de los cocos. A. Micrococcos. B. Diplococcos. C. Etreptococcos. D. Tétradas. E. Sarcina. F. Estafilococcos.

último, ciertos bacilos parecen cortados a pico, o en forma recta.

Hay un grupo de bacilos que durante muchos años se consideraron hongos, porque se ven como filamentos y con cortas ramificaciones; son los bacilos **filamentosos**.

Los bacilos también pueden quedar agrupados en forma característica. Existen agrupaciones en cadenas, **Estreptobacilos**, y cuando los bacilos se presentan unidos uno al lado del otro según su eje mayor, se dice que están **en empalizada**. Otra forma es la que se origina cuando quedan unidos por algún punto, lo que produce formaciones asimilables a las letras L, T, X, V, Y (fig. 2-2).

Entre los cocos y los bacilos hay microorganismos de apariencia intermedia por su tamaño y morfología que se conocen como **cocobacilos**.

Formas espiraladas

Las formas incurvadas se clasifican según el número de curvaturas que poseen y de acuerdo a si su cuerpo es rígido o poseen filamentos internos contráctiles, lo que les confiere flexibilidad. Hay una forma espiralada de cuerpo rígido y una sola curvatura, como si fuera una coma que se denomina *Vibrio*. Algunos lo consideran un bacilo curvo. Si tiene más de una curvatura, como una S, es un *Espirilo* (fig. 2-3).

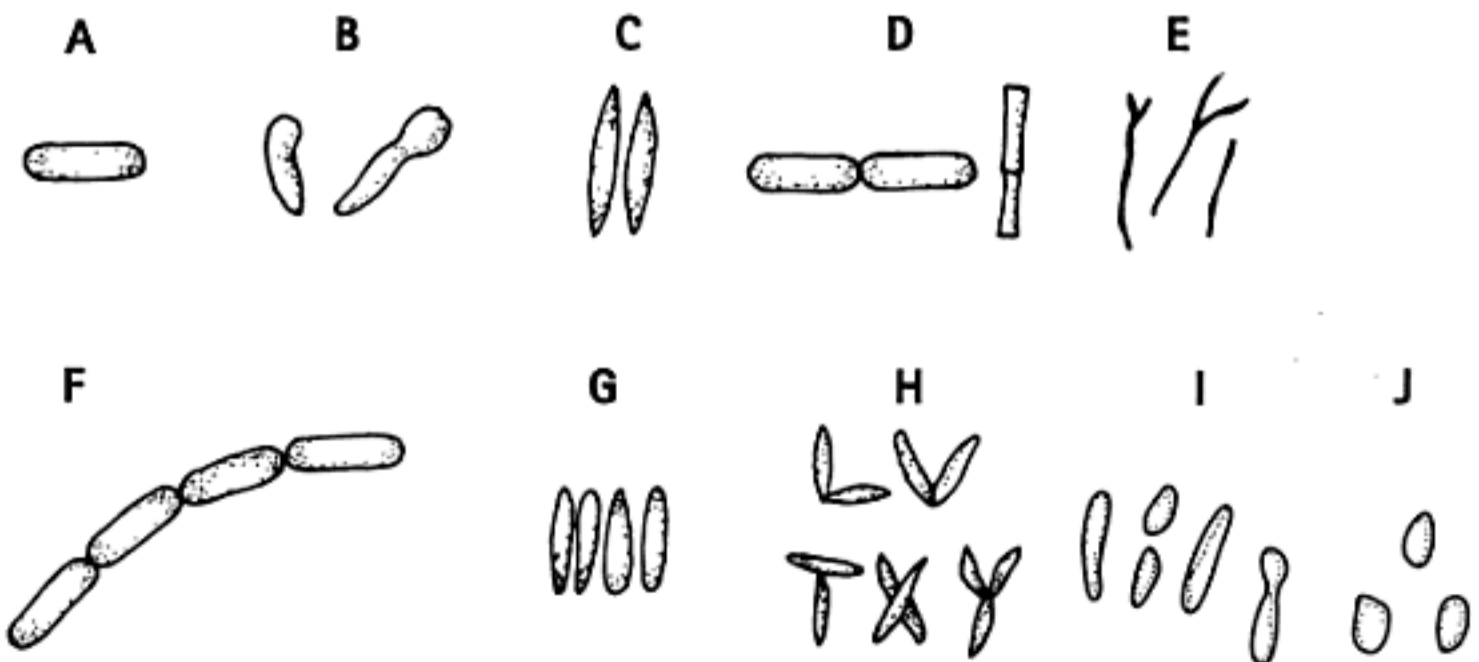


Fig. 2-2. Formas y agrupaciones de los bacilos. A. Bacilo común. B. Claviforme. C. Fusiforme. D. Cortado a pico. E. Filamentoso. F. Agrupación en estreptobacilo. G. Agrupación en empalizada. H. Agrupación en letras. I. Pleomórficos. J. Cocobacilos.

Un cuerpo flexible con varias curvaturas semejante a un tirabuzón puede ser una *Borrelia* si las espiras son amplias, un *Treponema* si las espiras son más apretadas o una *Leptospira* si además de tener muchas espiras los extremos están incurvados hacia adentro (fig. 2-3). En estas formas no aparecen agrupaciones especiales, sus células se mantienen aisladas.

Recientemente se han descrito bacterias en forma de **estrella**, **piriformes**, **discoidales**, con **apéndices o yemas** y planas **cuadrangulares**, pero hasta el momento carecen de interés médico.

La bacteria que se presenta como un coco siempre lo hace de esa manera, dado que esa característica es **consecuencia de la información genética**. No obstante, algunas condiciones del ambiente en alguna especie pueden modificar esto y la bacteria puede visualizarse con distintas formas, como ocurre con el género *Corynebacterium*, y entonces se dice que se trata de una bacteria **pleomórfica** (fig. 2-2).

MORFOLOGÍAS PREVALENTES EN LA CAVIDAD BUCAL

Las morfologías bacterianas que prevalecen en la cavidad bucal de las personas sanas consisten en diversos tipos de estreptococos, variados bacilos (especialmente del tipo de los filamentosos) y diplococos. Cuando cambian las condiciones locales, por ejemplo si disminuye la tensión de oxígeno o aumentan ciertas sustancias, es posible individualizar casi todos los morfotipos, de interés médico, descritos (véase cap. 20).

Al examinar una preparación microscópica, hay que prestar atención al tipo de morfología y agru-

pación que prevalece, dado que la manipulación a que se someten las muestras alteran algo el tipo de presentación.

El aspecto morfológico de las bacterias es uno de los primeros criterios que se tiene en cuenta para su identificación y clasificación por medio de **fenotipificación**.

Luego se tienen en cuenta otras características, como el tipo de tinción que toman y sus propiedades metabólicas; es la **biotipificación**.

Posteriormente se incluyeron otros criterios, como los antígenos (véase cap. 15) que las conforman y así se llega a la **serotipificación**.

Puede avanzarse si se incluye la respuesta a los antimicrobianos y la susceptibilidad a ciertos virus que infectan bacterias, esto es, la **lisotipificación** (véase cap. 8).

Lo más preciso, en la actualidad, es el análisis del material genético de los microorganismos, que no sólo sirve para identificarlos, sino también como método auxiliar de diagnóstico y, en especial, para aquellos microorganismos que no son cultivables; es la **genotipificación** (véase cap. 28).

TAMAÑO DE LAS BACTERIAS

El tamaño término medio es de 1 μm , que es el diámetro de los cocos y el diámetro menor de los **bacilos** y los **espirilos**. El largo de algunos bacilos o formas espiraladas puede alcanzar los 20 μm o más. Son visibles sólo con el auxilio del microscopio.

Datos recientes notifican el hallazgo de una bacteria sin necesidad de magnificación, dado que su tamaño es cien veces mayor que el de las demás; también existe otro grupo denominado **nanobacterias** o **ultramicrobacterias**, que son de tamaño

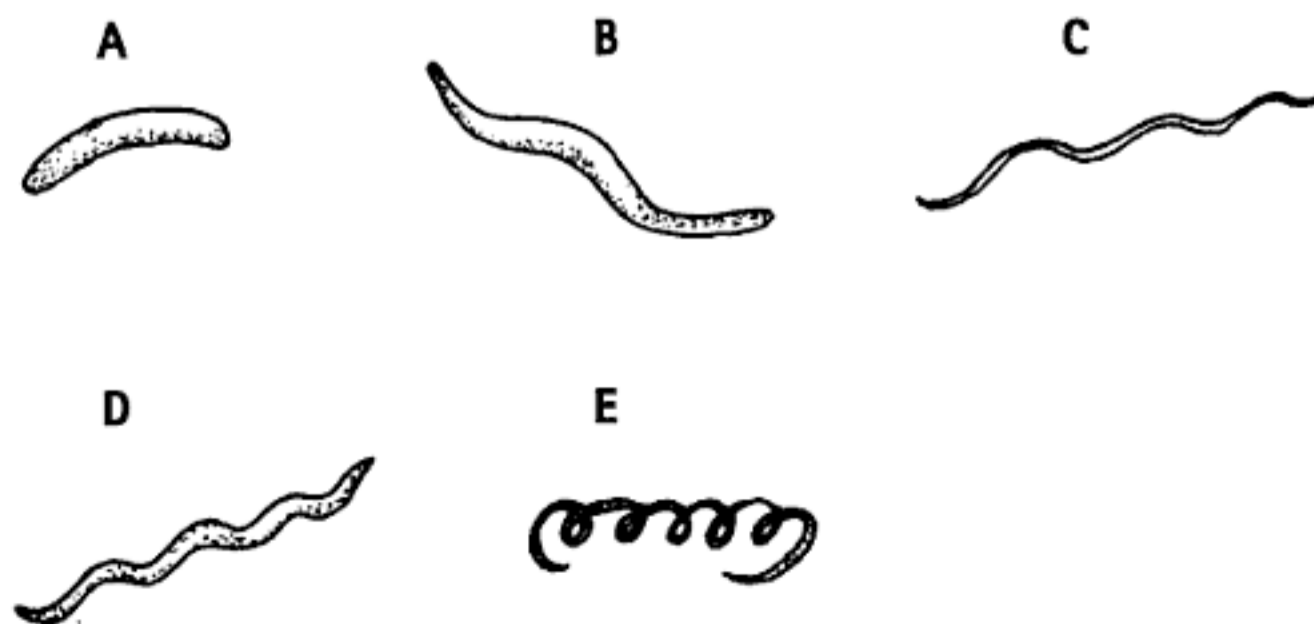


Fig. 2-3. Formas incurvadas o espiraladas. A. *Vibrio*. B. *Espirilo*. C. *Borrelia*. D. *Treponema*. E. *Leptospira*.

mucho más reducido que las convencionales. Algunos investigadores suponen que no es concluyente que formen parte de las bacterias patógenas para el hombre.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS BACTERIAS

Las bacterias, como todos los seres vivos, contienen un **alto porcentaje de agua** (casi el 70%).

El 30% restante consiste en sustancias que forman su peso seco. A grandes rasgos en ese peso seco los compuestos que alcanzan mayor proporción son las **proteínas**; también hay **ácidos nucleicos, DNA y RNA, lipopolisacáridos, fosfolípidos**, otras sustancias químicas y **trazas de otros elementos inorgánicos** que integran otras moléculas.

No obstante la composición química puede variar de un tipo de bacteria a otra y esto permite diferenciarlas, en ocasiones por medio de reactivos colorantes.

Resumen

Los microorganismos unicelulares del reino Procariota o Dominio Bacteria (de vida libre) poseen tres morfologías predominantes, a saber, cocos (esféricos), bacilos (alargados) y espiralados o incurvados con una o más curvaturas, de cuerpo rígido o flexible.

Hay formas intermedias como los cocobacilos. La división simple de estos microorganismos produce agrupaciones características en algunos géneros. Los que tienen la capacidad de cambiar de forma se denominan **pleomórficos**. Existen otras morfologías, pero carecen de interés médico.

En la cavidad bucal de las personas sanas hay predominio de estreptococos, bacilos, especialmente del tipo filamentosos, y algunos diplococos. Si se modifican las condiciones, se visualizan casi todas las morfologías citadas.

Las bacterias pueden clasificarse con criterios fenotípicos, biotípicos, serotípicos o genotípicos.

El diámetro menor de las bacterias es de aproximadamente 1 μm y en algunos bacilos o formas espiraladas el largo puede llegar a ser de 20 μm o más.

Las bacterias están compuestas por agua, proteínas, ácidos nucleicos, lipoproteínas, fosfolípidos y otros compuestos orgánicos y trazas de elementos inorgánicos que constituyen parte de otras moléculas.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué morfologías principales pueden tener las bacterias?
2. Mencione las agrupaciones que pueden presentar los cocos.
3. Enumere distintos tipos de bacilos según su aspecto.
4. ¿Cómo se designan las distintas formas espiraladas?
5. Dibuje los distintos tipos de bacterias.
6. ¿Podría indicar el tamaño aproximado de las bacterias?
7. ¿Cuáles son las morfologías bacterianas prevalentes en la cavidad bucal de las personas sanas?
8. ¿Cuáles son los componentes químicos principales de una célula bacteriana?

Problema 2-1

En un examen microscópico se visualizan formas esféricas, en su mayoría agrupadas como racimos de uva.

Preguntas:

1. ¿Cómo se llama este tipo de agrupación?
2. ¿A qué obedece que se dispongan así?
3. ¿Por qué no se ven todas agrupadas así?
4. ¿Qué diámetro aproximado tiene cada célula?
5. Si se tomara una sola célula o coco de esta agrupación; ¿a qué daría origen al reproducirse?
6. Si quisiéramos clasificarlas, ¿a qué métodos deberíamos recurrir?

BIBLIOGRAFÍA

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 3: Morfología, síntesis y estructuras de la pared celular de las bacterias. En: Microbiología médica, 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006, pp. 1-24.

Negroni M. Capítulo 2: Morfología bacteriana. En: Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1999, pp. 9-12.

Santillán MA. Capítulo 3: Morfología y estructura bacteriana. En: Microbiología biomédica. Bacteriología. Micología. Virología. Parasitología. Inmunología. 2ª ed. Buenos Aires: Atlante, 2006, pp. 54-78.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. The prokaryotic cell. In: Microbiology. An introduction. 8th ed. San Francisco: Pearson. Benjamin Cummings, 2004, pp. 76-96.

3

CÉLULA BACTERIANA

Marta Negroni

Contenidos

Elementos habituales de la célula bacteriana. Pared celular. Membrana citoplasmática o celular. Citoplasma. Ribosomas. Nucleoide, o nucleoplasma, o genoide, o genóforo, o región nuclear. Elementos no habituales. Cápsula. Glicocálix, o sustancia laxa, o capa de limo. Flagelos. Fimbrias o pili. DNA extracromosómico. Inclusiones. Esporas o endosporas.

Objetivos

- Enumerar las estructuras de una célula bacteriana completa.
- Mencionar las tres características más sobresalientes de la célula bacteriana.
- Diferenciar los tipos de pared celular.
- Enumerar las funciones de cada una de las estructuras bacterianas.
- Relacionar las funciones de ciertas estructuras bacterianas con la capacidad de producir enfermedad.
- Describir la importancia de las esporas bacterianas.

INTRODUCCIÓN

Con el auxilio del microscopio óptico compuesto es posible diferenciar formas bacterianas y agrupaciones. Las células se observan sin color, o bien, fijadas y coloreadas (véase caps. 31-2 y 31-3) pero es imposible saber cómo están conformadas. El advenimiento del microscopio electrónico de transmisión (MET) (véase cap. 31-3) ha permitido apreciar, gracias a los cortes ultrafinos y la gran magnificación, las estructuras constitutivas de los microorganismos.

Las células bacterianas presentan estructuras que son comunes a todas ellas, independientemente de la forma que tengan. Estas estructuras son la pared celular, la membrana citoplasmática o celular y el citoplasma, en el que se encuentran los ribosomas y el nucleoide.

Otras estructuras aparecen sólo en algunos géneros o especies, como la cápsula, el glicocálix, los flagelos, los pili, el DNA extracromosómico, diversas inclusiones y las esporas.

Por este motivo las primeras estructuras se conocen como elementos habituales, imprescindibles, u obligados o esenciales y las segundas se consideran elementos no habituales, o facultativos o no esenciales, porque incluso las células que

normalmente las presentan podrían llegar a vivir sin ellos.

Es importante conocer la estructura bacteriana (fig. 3-1) porque ella explica el porqué de la presencia de estos microorganismos en algunos ambientes y su posible capacidad para causar enfermedades. Además, el conocimiento de la estructura de las bacterias permite establecer diagnósticos y lograr sustancias para contrarrestarlas o para preparar inmunógenos o vacunas (ver cap. 30) con parte de ellas.

ELEMENTOS HABITUALES DE LA CÉLULA BACTERIANA

Pared celular

En la mayoría de las bacterias la pared es la estructura más externa y es bastante rígida.

En estado natural las bacterias patógenas para el hombre son incoloras. Un bacteriólogo danés llamado Gram ideó una técnica de coloración que permitió distinguir dos grupos fundamentales de bacterias según el colorante que tomaran (véase cap. 31). Luego se individualizó un tercer grupo

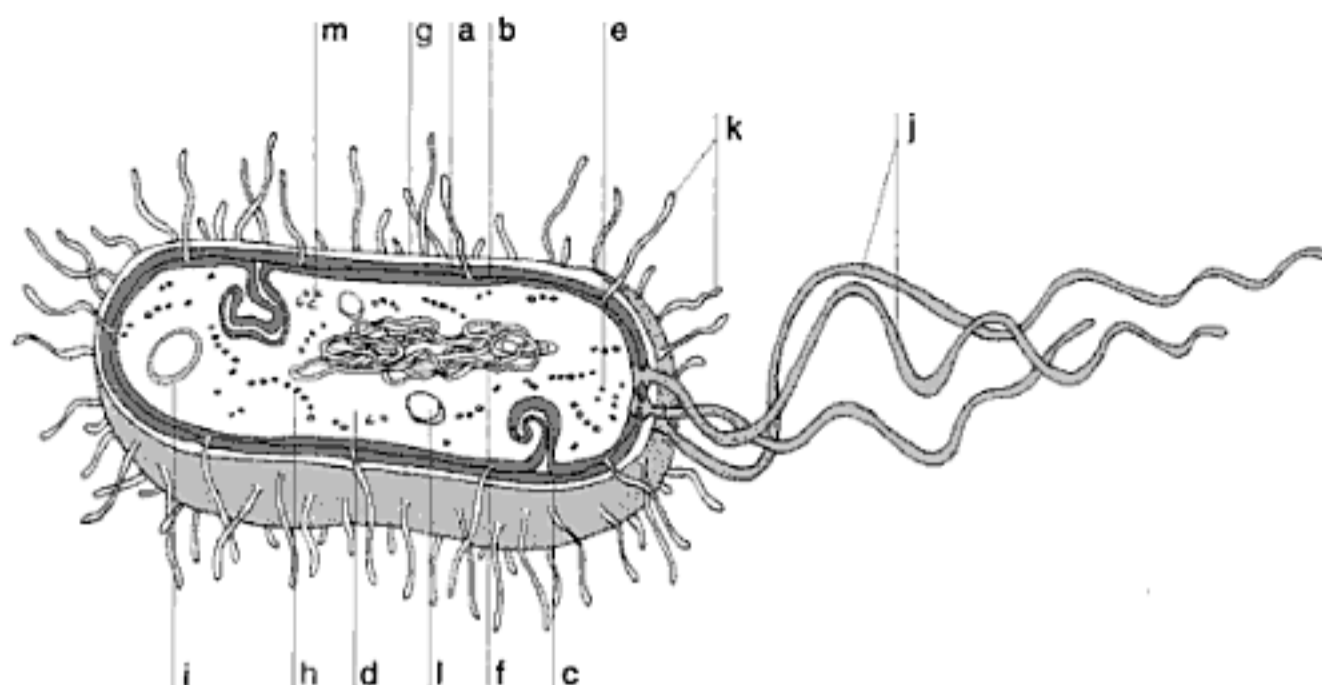


Fig. 3-1. Esquema de una célula bacteriana completa: a: pared celular; b: membrana celular; c: mesosomas; d: citoplasma o citosol; e: ribosomas; f: genoide o nucleoide; g: cápsula; h: polirribosomas; i: espora; j: flagelo; k: fimbria o pili; l: inclusiones.

que no tomaba bien esta tinción. Además, las bacterias no patógenas pueden tener otro tipo de pared.

La distinta forma en que se comportan las bacterias frente a las soluciones colorantes se debe a que cada grupo posee una composición química diferente. Por lo tanto, ésta varía si se trata de células grampositivas, gramnegativas o ácido-alcohol resistentes, que son las del tercer grupo. Hay autores que opinan que el comportamiento frente al colorante depende de la conformación física de esa estructura más que de la composición química.

Lo que podríamos llamar el esqueleto de la pared celular es un complejo de mucopolisacárido o peptidoglucano o mureína. Este complejo representa una verdadera red formada por cadenas paralelas de N-acetil-glucosamina unida a N-acetil-murámico (de *murus*: pared), entrelazadas por aminoácidos o cadenas laterales tetrapeptídicas (fig. 3-2).

En las bacterias grampositivas esta capa es bastante gruesa (puede llegar a tener 200 moléculas de espesor) y está atravesada por ácidos teicoicos. Estos ácidos le confieren a esta capa una carga eléctrica negativa, lo que facilita la unión del microorganismo al diente, como se verá más adelante, o a la mucosa (cap. 18) y permite la unión o la agregación interbacteriana, por lo que son **factores de virulencia** (véase cap. 17).

En realidad, hay más de cien variedades de mureína, lo que permite hacer parte de la caracterización de las bacterias. La penicilina actúa sobre la pared de las bacterias grampositivas y rompe las uniones peptídicas de ese mucocomplejo.

Una enzima que se encuentra en las secreciones humanas y en ciertas células eucariotas, la **lisozi-ma** (véanse caps. 14 y 18), también ataca a esa estructura pero en las uniones polisacáridicas. Los **protoplastos**, que son células grampositivas que han perdido la pared celular, pueden originarse como resultado de la acción de esa enzima.

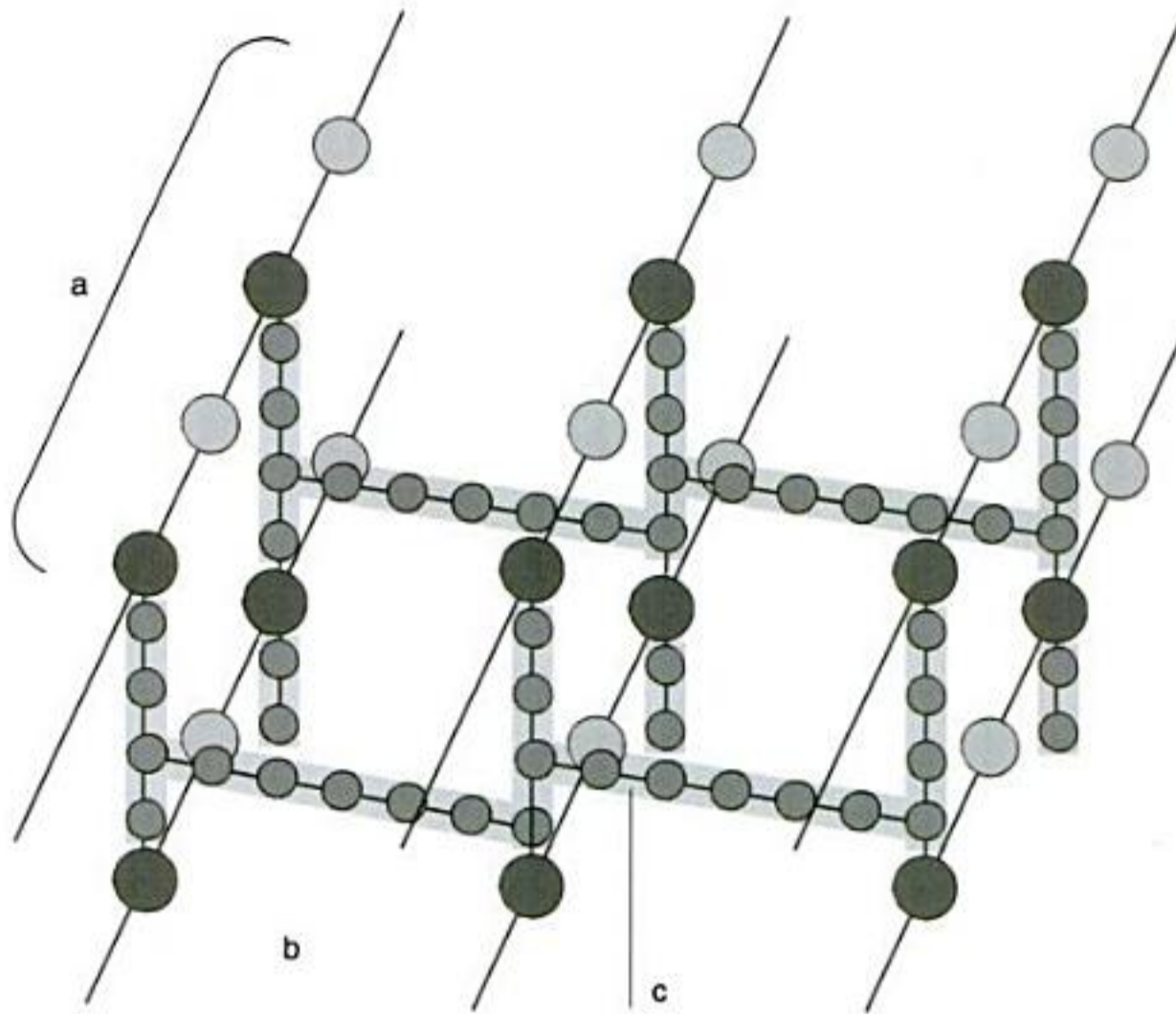
Las bacterias gramnegativas contienen menos peptidoglucano; el peptidoglucano está incluido en una zona que con el microscopio electrónico de transmisión se ve de color claro; esa zona se designa **espacio periplásmico**. Las bacterias gramnegativas carecen de ácidos teicoicos. La capa más externa está formada por lipopolisacáridos y proteínas, y se conoce como lipopolisacárido (LPS) o antígeno O. Parte de los lipopolisacáridos son reemplazados por fosfolípidos, lo que confiere una característica asimétrica a esta estructura. La zona más interna es el lípido A o endotoxina. En suma, hay mayor cantidad de lipoproteínas y fosfolípidos (fig. 3-3).

En estas paredes hay proteínas denominadas **porinas**, que brindan cierta permeabilidad a esta capa y permiten el pasaje de moléculas pequeñas.

Entre la membrana citoplasmática y la parte más externa existen zonas de unión conocidas como **uniones de Bayer**.

Las células gramnegativas pueden perder parcial o totalmente la pared y en estas circunstancias se las conoce como **esferoplastos** (cuadro 3-1).

En la enfermedad periodontal las bacterias gramnegativas son muy numerosas y la constitución de su pared celular sería responsable en parte de las alteraciones que se producen en esos tejidos.






-  N-acetil-glucosamina (NAG)
-  Ácido N-acetil-murámico (NAM)
-  Aminoácido

Fig. 3-2. Esquema de la mureína. a: esqueleto de mucopolisacárido; b: cadena lateral de tetrapéptidos; c: uniones cruzadas interpeptídicas.

Cuadro 3-1. Diferencias entre bacterias grampositivas y gramnegativas

Característica	Grampositivas	Gramnegativas
Tinción con Gram	violeta	rojizo
Pared celular	sí	sí
Peptidoglucano	en gruesa capa	una capa fina
Ácido teicoico	presente	ausente
Lipopolisacáridos	ausentes	presentes
Espacio periplásmico	ausente	presente
Susceptibilidad a lisozima	alta	baja
Susceptibilidad a penicilina	alta	baja
Producción de toxinas	en general, exotoxinas	fundamentalmente, endotoxinas
El daño de la pared origina	protoplastos	esferoplastos

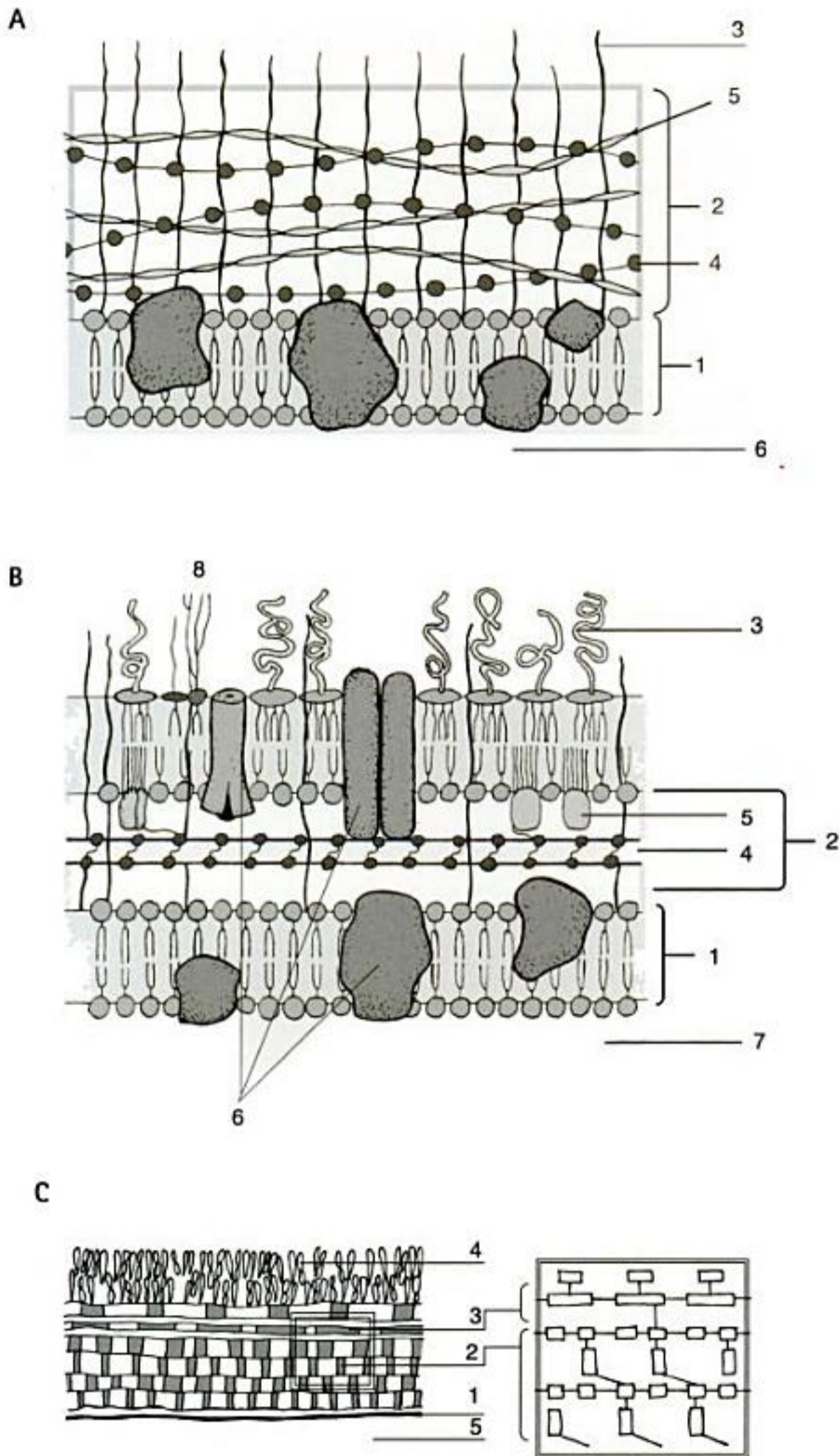


Fig. 3-3. Esquema de las paredes celulares. **A.** Pared celular de una bacteria grampositiva. **B.** Pared celular de una bacteria gramnegativa. **C.** Pared celular de una bacteria ácido-alcohol resistente. **A)** 1: membrana celular; 2: pared celular; 3: ácidos lipoteicoicos; 4: peptidoglucano; 5: ácidos teicoicos; 6: citoplasma. **B)** 1: membrana celular; 2: espacio periplasmático; 3: lipopolisacárido y proteína; 4: peptidoglucano, 5: lipoproteína, 6: proteínas, 7: citoplasma. 8: fosfolípidos. **C)** 1: membrana celular; 2: peptidoglucano con N-glucosamil-muránico; 3: arabino-galactano con ácido micólico; 4: lípidos (ceras, factor cuerda, micósidos); 5: citoplasma.

Entre los microbios de interés médico, hay bacilos, cocos y formas espiraladas con pared gramnegativa.

Las bacterias ácido-alcohol resistentes o micobacterias son bacilos que contienen peptidoglucano en la zona interna de la pared. En este complejo, el N-acetil-murámico es reemplazado por N-glucosamilo-murámico. Estas bacterias poseen un 60% de lípidos del tipo ácidos micólicos en la parte externa y una zona intermedia de arabino-galactano. El bacilo que produce la tuberculosis tiene este tipo de pared (fig. 3-3).

La capa lipídica es un factor de agregación de las micobacterias (*cord factor* o factor cuerda) responsable de la virulencia y resistencia a la fagocitosis.

La capa lipídica no es permeable a los colorantes de gram; la técnica de coloración ácido-alcohol resistente empleada permite visualizarlas de color rojo con la coloración de Ziehl Neelsen (véase cap. 31-3).

Otros bacilos poseen ácidos micólicos en su pared y pertenecen a los géneros *Corynebacterium* y *Nocardia*; son parcialmente ácido resistentes.

La síntesis de la pared, o sea, la unión de las moléculas que la conforman se produce en cuatro etapas: una etapa en el citoplasma, otra etapa transmembrana y las últimas en la pared propiamente dicha. En esta etapa, el transporte molecular es facilitado por un fosfolípido hidrófobo, el **bactoprenol**, que actúa sólo como un transporte.

Existen antibióticos capaces de interferir en alguna de estas etapas y en eso radica la importancia práctica de conocer este mecanismo.

Funciones

La pared celular es la encargada de mantener la forma de la bacteria, a la que protege del medio que la rodea. La pared se colorea de distinta forma según su composición química. Hay quienes sostienen que la capacidad para retener el colorante es producto de su conformación física más que de su composición química debido a que hay un hongo que con una estructura química totalmente diferente de la de las bacterias se colorea también como grampositivo. Además, la pared celular es responsable de los rasgos taxonómicos, sirve de sitio de acción para determinados antibióticos o antimicrobianos, permite la fijación de virus bacterianos específicos o **bacteriófagos** (véase cap. 8), deja pasar los flagelos, interviene en la división celular y posee antigenicidad, por lo que modula la respuesta inmune específica. Los ácidos teicoicos contribuyen a la adhesión a superficies como el diente y a otras células del organismo. También almacena fosfato y autorregula la integridad de estos organismos.

Hay bacterias que pierden con facilidad la pared y que se conocen como **formas L** (debido a que fueron reconocidas en el Instituto Lister). Algunas de estas formas pueden volver a la forma original, si el medio les es favorable; son las **formas L inestables**. Empero, existen **formas L estables** y esto tiene gran importancia médica porque pueden ser causa de resistencia a los antibióticos.

Hay un grupo de bacterias que genéticamente carecen de pared celular; se las describe en el capítulo 4.

Se reconocen las archibacterias que tienen la particularidad de no tener peptidoglucano en la composición de su pared celular; por el momento no tienen interés médico.

Membrana citoplasmática o celular

Esta membrana, que está situada por dentro de la pared celular, unida o no al espacio periplasmático, contiene el citoplasma con sus estructuras. Compuesta fundamentalmente por fosfolípidos y algunas proteínas, es más flexible que las membranas de los eucariotas. En las observaciones efectuadas a través del microscopio electrónico de transmisión (MET) se ven dos capas y puede decirse que **la membrana es una bicapa lipídica** que aparece como dos líneas electrodensas separadas entre sí por una zona clara. Contiene gran cantidad de enzimas. Las **proteínas son superficiales o integrales**, estas últimas de aspecto globular. Las primeras son más fáciles de extraer por procesos químicos (fig. 3-4). Además, la capa interna está cubierta por unas proyecciones proteicas, denominadas **actinas**, que son las que determinan la forma de la bacteria.

La membrana tiene plegamientos en forma de invaginaciones: los **mesosomas**. Éstos, que son mucho más numerosos en las bacterias grampositivas que en las gramnegativas, se diferencian en **mesosomas septales** o de tabique y **mesosomas transversales** o laterales, según su ubicación y su función (fig. 3-1c).

Sin embargo, se piensa que podrían ser artificios producidos durante la preparación de las muestras para su observación mediante microscopía electrónica.

Funciones

La membrana citoplasmática actúa como una membrana semipermeable que **permite el paso de determinadas moléculas**. Tiene gran **actividad enzimática**, degrada nutrientes, produce energía y permite el pasaje de productos de excreción. En algunas bacterias no patógenas asientan en

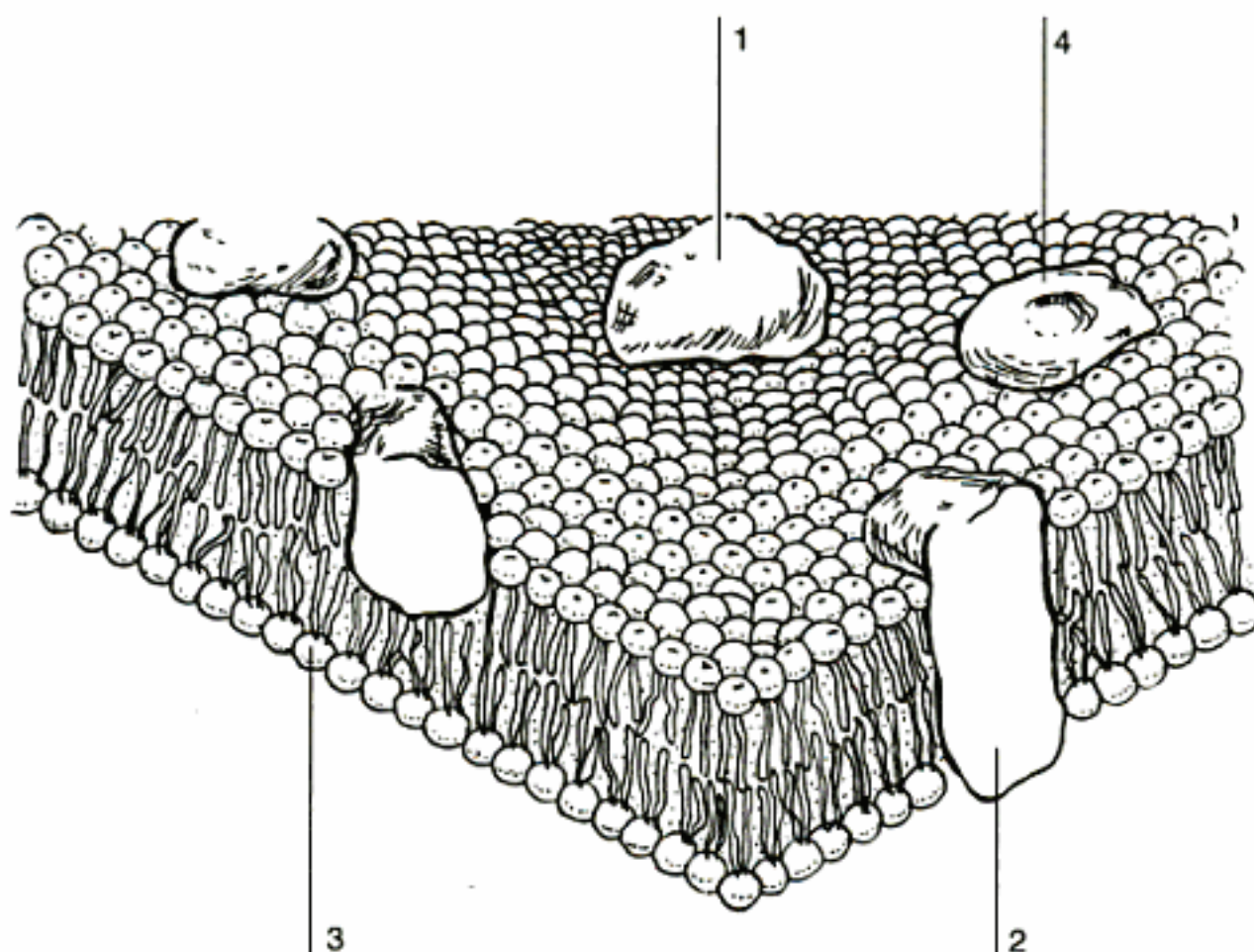


Fig. 3-4. Esquema de la membrana celular. 1: proteínas integrales; 2: proteínas de superficie; 3: fosfolípidos; 4: enzimas.

ella pigmentos fotosintéticos (**cromatóforos o cloroplastos**).

Se cree que a través de los mesosomas interviene en el proceso de división celular. Los que aseguran la validez de esta formación sugieren que le confiere mayor superficie a la membrana, lo que permite un pasaje más ágil de sustancias nutritivas o de excreción.

Es el **sitio de acción de numerosos antimicrobianos**, como las polimixinas, y también es sensible a determinados desinfectantes.

En las bacterias gramnegativas se aprecia una zona clara alrededor de la membrana que es el **espacio periplasmático**; allí tiene lugar el transporte y el procesamiento de diversas moléculas. Este espacio permite diferenciar a través del MET una bacteria grampositiva de una gramnegativa, aun sin la técnica de coloración, debido a que en las grampositivas esta zona está ausente. En realidad, se trata de un espacio virtual, ya que en las bacterias gramnegativas está ocupado por una delgada capa de mureína y diversas enzimas.

Citoplasma

El citoplasma, que es la **porción celular con más contenido acuoso (80%)**, es como un coloide que tiene en suspensión proteínas, azúcares, lípi-

dos, iones inorgánicos y compuestos de bajo peso molecular. En el citoplasma se encuentran los ribosomas y el nucleoide. La zona donde se ubican los ribosomas es de aspecto granular y se llama **citósol**.

Ribosomas

Los ribosomas son elementos **esféricos o ligeramente aplanados**, presentes en una cantidad de 10.000 o más, lo que confiere al citoplasma el aspecto granuloso. Están aislados o reunidos de a tres o de a cuatro mediante un trozo lineal de RNA mensajero (RNAm) y así forman **polisomas**.

Se ha comprobado que los ribosomas están constituidos fundamentalmente por **proteínas y RNA ribosómico**. Por su velocidad de sedimentación estos ribosomas son 70S (S: unidades Svedberg, de velocidad de ultracentrifugación), con dos subunidades principales, una es 30S (contiene una molécula de RNAr) y la otra 50S (encierra dos moléculas de RNAr).

Funciones

Allí se realiza la **síntesis de proteínas** y tiene lugar la acción de antibacterianos, tales como las tetraciclinas. Otros antimicrobianos actúan específicamente sobre cada una de las subunidades (véase cap. 12).

Nucleoide, o nucleoplasma, o genoide, o genóforo, o región nuclear

Se lo denomina indistintamente de cualquiera de estas formas para señalar que **carece de membrana nuclear**.

Se trata de **una sola molécula de DNA bicatenario** larga, enrollada, cerrada, sin cubierta, **ubicada en la parte central de la célula y adherida a la membrana citoplasmática**.

Las cadenas del DNA se abren y cada una sirve de molde para que se produzca otra, con el auxilio de varias enzimas (véase caps. 6 y 7).

En realidad, está constituido en su mayor parte por DNA, pero **también se detectan RNA y proteínas**. Ocupa aproximadamente el 20% del volumen de la célula.

Función

La función del nucleoide consiste en la **transmisión de la información genética** para conservar las estructuras y las funciones de cada especie. **Algunos antimicrobianos actúan a este nivel**.

Desde hace algunos años las bacterias se tipifican por la secuencia y los tipos de genes, es decir, por el **"mapa genético"**.

ELEMENTOS NO HABITUALES

Cápsula

La cápsula es la **estructura más externa** en las células que cuentan con la información genética necesaria para poseerla. Está situada por fuera de la pared celular. En general, es de constitución **polisacáridica**, aunque las hay **peptídicas**. Está muy hidratada. Tiene un **espesor uniforme** y se encuentra firmemente **adherida a la pared celular**. No se colorea con las técnicas comunes. Puede ser puesta en evidencia por técnicas de tinción negativa (véase cap. 31-3). Es más notoria en los microorganismos en vivo y en cultivos primarios.

Por el tipo de cultivo que origina puede suponerse si una bacteria es capsulada o no, dado que las primeras **producen colonias llamadas lisas o mucoides**.

Funciones

La cápsula les confiere a los microorganismos que la poseen una mayor capacidad de agresión o **virulencia**. Protege a la bacteria del mecanismo de **fagocitosis** que ejecutan las células encargadas de la defensa del organismo. Les permite resistir la acción de los antibacterianos. Actúa favoreciendo

la adhesión. Es fuente de reserva de nutrientes. Es muy antigénica. **El antígeno capsular se denomina K** de Kapsel (en alemán) o **Vi de virulencia**. La presencia de cápsula en algunas bacterias sirve para pruebas de identificación.

Glicocálix, o sustancia laxa, o capa de limo

El glicocálix es una capa externa de aspecto gelatinoso y pegajoso que está compuesta por polisacáridos, polipéptidos o ambas cosas. Es generada en el interior de la célula y luego vertida al exterior. No es tan uniforme como la cápsula y está menos adherida a la pared celular. En los cultivos las colonias de estos microorganismos tienen un **aspecto mucoso**.

Si el glicocálix está compuesto sólo por azúcares, se designa como **polisacárido extracelular (EPS)** (véase cap. 19).

Funciones

El glicocálix brinda a las bacterias **facilidad para adherirse** a distintas superficies. Esto ocurre con *Streptococcus mutans*, que se une firmemente a la superficie libre de los dientes.

Además de evitar la deshidratación del microorganismo, impide la salida de sustancias alimenticias y, eventualmente, puede ser utilizado como fuente de nutrientes.

Flagelos

Los flagelos son apéndices filamentosos extracelulares, largos, flexibles, ondulados y delgados que hacen que las bacterias que los poseen gocen de movilidad. Aparecen en algunos bacilos rectos o curvos, tanto grampositivos como gramnegativos.

Tipos de flagelos

Los flagelos se clasifican según el número y la ubicación. Se dice que la bacteria es **átrica** (*trico* = pelo, *a* = prefijo negativo) si no presenta flagelos, **monótrica** (*mono*: uno) si tiene un solo flagelo, **anfítrica** cuando presenta un flagelo o un penacho en cada polo, **lofótrica** cuando posee un solo penacho en un extremo y **perítrica** si tiene flagelos a lo largo de toda su superficie (fig. 3-5).

Estas estructuras están compuestas por una proteína globular denominada **flagelina**, que está enrollada en forma helicoidal y sin envoltura.

Los flagelos presentan tres zonas bien diferenciadas: el **apéndice o filamento**, un **codo o gancho**, también de composición proteica, y un **cuerpo basal**, en el que se superponen dos o cuatro ani-

llos, según se trate de bacterias gramnegativas o grampositivas respectivamente. El cuerpo basal es el que mantiene el flagelo unido a la pared y a la membrana citoplasmática (fig. 3-6) que es la que provee el potencial para impulsar la bacteria, para lo que requiere energía.

La movilidad puede comprobarse en preparaciones en fresco con el microscopio óptico común. Para colorear los flagelos es preciso recurrir a técnicas de tinción especiales, o bien, se los observa por medio del microscopio de contraste de fase y el electrónico (véase caps. 31-2 y 31-3).

Puede suponerse que una bacteria es flagelada por el tipo de cultivo que origina. Generalmente, ocupan una amplia superficie y se dice que dan colonias esparcidas.

En odontología se utilizó comprobar la cantidad de bacterias móviles como una orientación para el diagnóstico de enfermedad periodontal (véase cap. 20).

Funciones

La principal función de los flagelos es la **movilidad**, que permite que las células se acerquen o se alejen del medio según éste les sea favorable o no (quimiotaxis positiva o negativa). Esta facilidad para moverse las ayudaría a extenderse a otras zonas en un organismo, lo que equivaldría a otorgarles **mayor patogenicidad**. También actúan como antígeno y se los denomina **antígeno H** (del vocablo alemán **Hanch**, que significa esparcido) por el tipo de cultivo que producen.

Filamento axial

Las bacterias del género *Treponema* tienen movilidad gracias a que poseen **filamentos internos o fibrillas, o un filamento axial o endoflagelo**, que es como si fuera un flagelo interno. Existen treponemas en la boca y el agente de la sífilis también pertenece a este grupo.

Fimbrias y pili

Las **fimbrias** son prolongaciones delicadas o **vellosidades** semejantes a pelos que presentan diversas bacterias, incluidos los cocos. Sin embargo, son más comunes en las bacterias gramnegativas que en las grampositivas, son cortas, rígidas, muy **numerosas** y más delgadas que los flagelos. Están dispuestas tanto en los polos de los bacilos como en el resto de su contorno. Sólo se las visualiza con el microscopio electrónico.

La constitución es proteica; la proteína constitutiva, que recibe el nombre de **pilina**, está dispues-

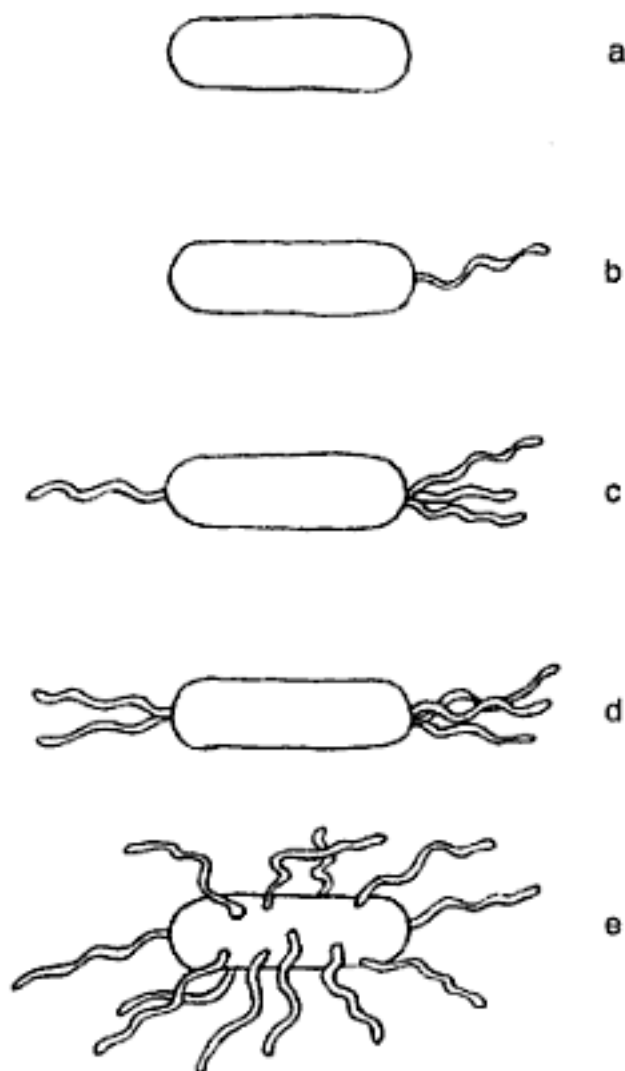


Fig. 3-5. Esquemas de bacterias flageladas: a: átrica; b: monótrica; c: anfítrica; d: lofótrica; e: perítrica.

ta de tal modo que deja un hueco central. Es posible que una célula flagelada también posea fimbrias. Las fimbrias antes se denominaban **pili comunes** y sirven para la adherencia. En su extremo pueden tener otra proteína (**lectina**) que se fija a azúcares específicos (p. ej.: manosa).

Los **pili** en general son **únicos** en la bacteria, excepcionalmente puede haber dos. Los utiliza el microorganismo para pasar información genética a otra bacteria, en una suerte de acoplamiento; son más largos que las fimbrias. Antes se denominaban **pili sexual**.

Funciones

Una de las funciones de las **fimbrias** es la **adherencia (adhesina)**, habilidad para permanecer unidas, por ejemplo, a células de la mucosa y luego invadir tejidos más profundos. Esto reviste importancia en patología bucal y en otras enfermedades infecciosas.

Los **pili** transmiten **información genética**, por lo que se los relaciona con casos de resistencia a los antimicrobianos. Ambas estructuras son antigénicas.

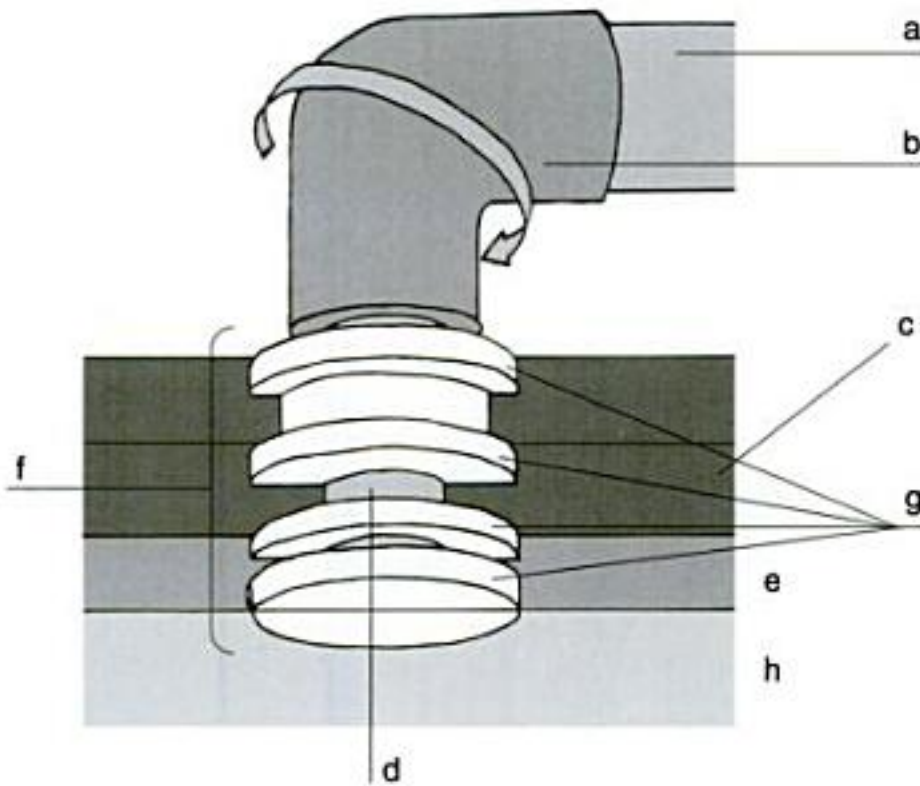


Fig. 3-6. Esquema de flagelo o filamento. a: flagelo; b: gancho o manguito; c: pared celular; d: eje o rotor; e: membrana citoplasmática; f: cuerpo basal; g: anillos; h: citoplasma.

DNA extracromosómico

El DNA extracromosómico consiste en pequeñas moléculas circulares de DNA bicatenario que también se denominan **plásmidos o episomas**. Los plásmidos contienen información genética de distinto número de genes y se **replican en forma autónoma** con respecto al nucleoide (véase cap. 7). Se encuentran en las bacterias gramnegativas. Pueden pasar de una bacteria a otra por un pili o transferirse a la descendencia en el momento de la división celular.

Funciones

Suelen inducir **resistencia a los antibióticos**, **tolerancia a metales tóxicos** y estimulan la producción de toxinas y otras enzimas. Todas estas funciones se traducen en un **aumento de la virulencia** (véase cap. 17).

Algunas bacterias contienen información genética extracromosómica introducida por un **bacteriófago o virus bacteriano**. En este caso, se diferencia del plásmido porque, además del ácido nucleico, contiene proteínas.

Por último, los **transposones** son fragmentos de DNA autorreplicativos capaces de pasar de un sitio a otro en el genoma, razón por la cual se los denomina **genes saltarines**.

Inclusiones

Las inclusiones son **elementos de reserva** de distinto tipo. En general, casi todas las bacterias poseen alguno, especialmente en momentos de reposo o envejecimiento. Algunas inclusiones contienen **glucógeno y almidón**, otras poseen lípidos;

las bacterias sulfurosas pueden contener inclusiones azufradas.

Las que contienen glucógeno tienen interés en microbiología bucal. En el bacilo diftérico existen gránulos o corpúsculos que se tiñen más intensamente. Son **gránulos metacromáticos o gránulos de volutina** que almacenan fosfatos inorgánicos.

Algunas bacterias producen gránulos de azufre y otras de ácido poli- β -hidroxibutírico.

Hay inclusiones que contienen gases; son vacuolas de gas y hay otras de líquidos.

Se ha comprobado que ciertas bacterias gramnegativas no patógenas tienen inclusiones en su citoplasma que actúan como imanes. Estas inclusiones son de óxido de hierro, lo que les confiere orientación, y se denominan **magnetosomas** (se está ensayando su utilización industrial).

Todos estos corpúsculos se encuentran **limitados por una capa proteica comparable con una membrana**. Algunas de estas inclusiones pueden verse con el microscopio óptico, como por ejemplo los gránulos metacromáticos.

Función

La única función de las inclusiones consiste en la **reserva de nutrientes** y, por ende, de energía.

Esporas o endosporas

Las esporas o esporos son **elementos de resistencia**, en general ovoides, que sólo aparecen en cinco géneros de bacterias grampositivas. Dos de esos géneros incluyen especies patógenas para el hombre. Las esporas presentan varias capas y todos los elementos constitutivos de la célula, pero deshidratados.

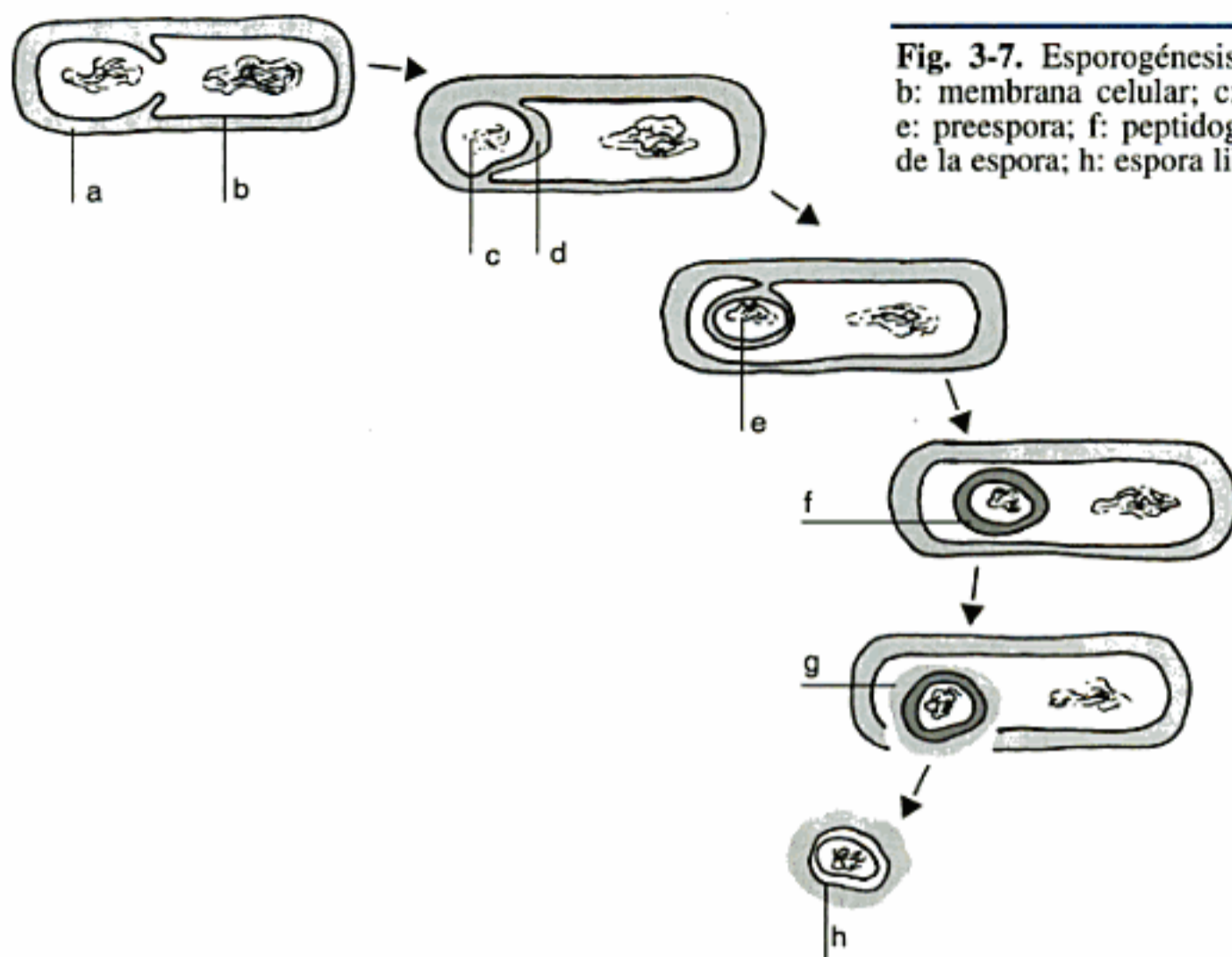


Fig. 3-7. Esporogénesis. a: pared celular; b: membrana celular; c: DNA; d: tabique; e: preespora; f: peptidoglucano; g: cubierta de la espora; h: espora libre.

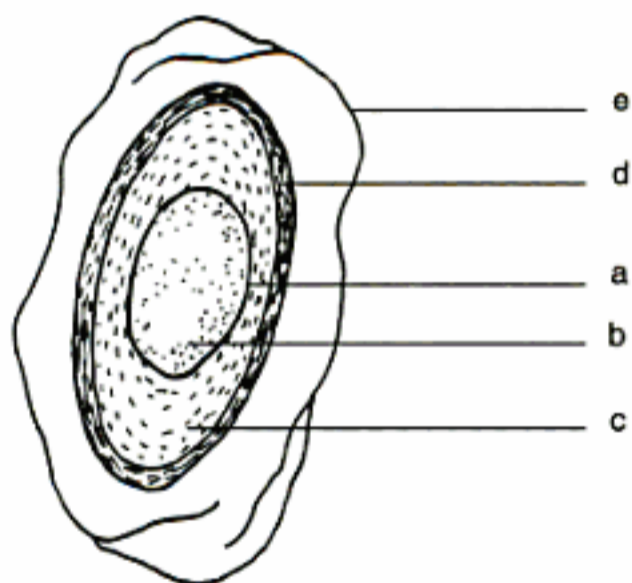


Fig. 3-8. Esquema de una espora, según se vería con MET. a: membrana interna; b: core o citoplasma de la espora; c: córtex; d: cubierta de la espora; e: exosporio.

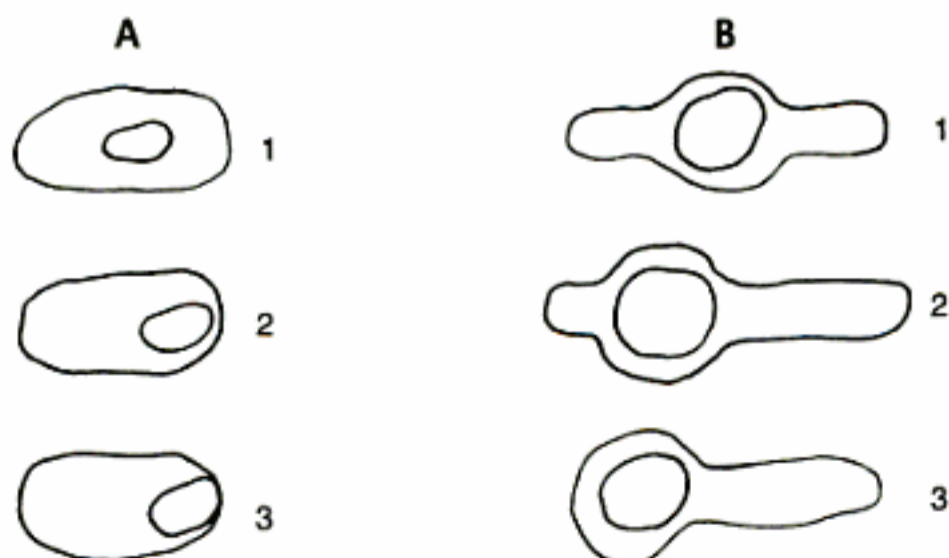


Fig. 3-9. A. Esporas no deformantes. B. Esporas deformantes. 1: ubicación central; 2: subterminal; 3: terminal.

Esporogénesis

Las esporas se forman dentro de una bacteria, en general grampositiva, y luego son **eliminadas hacia el ambiente**. Durante el período que permanecen en el medio ambiente quedan en **estado latente**.

Cuando se forma la espora, el primer acontecimiento es la invaginación de la membrana citoplasmática para dar origen al **tabique de la espora**, que engloba una porción de citoplasma y cromosoma, en una copia completa.

De este tabique derivan dos capas que conforman la **preespora**. Luego esa cubierta se hace más gruesa por la adición de peptidoglucano entre las dos capas anteriores y así queda constituida la **pared de la espora**. El exterior se recubre de proteína por condensación del citoplasma que lo rodea. Ésta es la **cubierta** del esporo que le da gran resistencia.

Cuando la espora se libera, se recubre de otra capa, que es el **exosporio** (fig. 3-7).

En el centro de la espora, que se conoce como **core**, hay **ácido dipicolínico** y una considerable cantidad de ion calcio. Estos últimos elementos no se encuentran en otra parte de la bacteria y se cree que permiten que la espora germine y dé origen a una nueva célula vegetativa (fig. 3-8).

Una **célula vegetativa** es la que puede germinar, nutrirse, crecer y dividirse sin permanecer en estado de latencia. Este proceso puede producirse más o menos rápido, pero hay esporas que germinan recién a los cien años y que se mantienen en **estado latente** a la espera de condiciones ambientales favorables. Para que germine es necesario que se

produzca una alteración de la capa externa, ya sea por efecto mecánico o por pH, calor u otro factor. Entonces la espora se hincha, capta abundante agua y nutrientes, reduce sus capas y se convierte en célula vegetativa.

Las esporas pueden tener un diámetro igual o menor que el de la bacteria, de modo que la forma de ésta no se modifica, pero también hay microorganismos que contienen **esporas deformantes** (fig. 3-9B). Tanto en un caso como en el otro, según su ubicación, las esporas pueden ser centrales, subterminales o terminales y esto ayuda a la tipificación del microorganismo (fig. 3-9).

Las esporas pueden visualizarse con el microscopio óptico común, pero requieren técnicas de coloración especiales (cap. 31-3), caso contrario se visualizan como refringentes. Además, para ver las capas y la conformación es necesario recurrir al MET.

Funciones

Los esporos le confieren a la bacteria, además de la capacidad de supervivencia, una gran **resistencia a los agentes físicos y químicos**, y debido a esta particularidad algunas bacterias esporuladas se usan como indicadores (controles biológicos) para saber si un ciclo de esterilización ha sido exitoso o no (caps. 13 y 31). También se utilizan para determinar el nivel de efectividad de un antiséptico o un desinfectante (véase cap. 11). De hecho resisten la ebullición hasta por un período de diecinueve horas.

Las capas superficiales de las esporas son muy antigénicas (ver cap. 15).

Resumen

Las bacterias son células procarióticas que presentan estructuras comunes a todas ellas y otras estructuras que sólo aparecen en algunos géneros y especies. Entre las primeras se encuentran:

La **pared celular**, cuyo componente principal es la mureína o peptidoglucano. Según las capas o sustancias que acompañan a este esqueleto, las bacterias se diferencian en grampositivas, las que poseen además de una gruesa capa de mureína, ácidos teicoicos y gramnegativas, con una capa muy delgada de mureína y gran cantidad de lípidos. En las bacterias ácido-alcohol resistentes la mureína tiene moléculas distintas y hay gran cantidad de lípidos y ácido micólico. La pared celular brinda forma, protección, adhesión y antigenicidad y es el lugar de acción de algunos antimicrobianos. Existen causas naturales de pérdida de la pared que conducen a la formación de protoplastos si la bacteria es grampositiva o de esferoplastos si es gramnegativa. La pared también puede ser vulnerada por la acción de la lisozima o los antibióticos. Las formas L son bacterias que pierden fácilmente la pared. Hay formas L estables e inestables.

La membrana celular o citoplasmática está constituida por fosfolípidos y proteínas integrales y de superficie. Esta membrana presenta plegamientos, los mesosomas septales y transversales (cuestionados por algunos), que son más numerosos en las bacterias grampositivas; es asiento de gran actividad enzimática y actúa como una membrana semipermeable. Además, interviene en la división celular y es el sitio o lugar de acción de muchos antimicrobianos.

Entre la membrana y la pared de las bacterias gramnegativas aparece el espacio periplasmático, una zona en la que se ubica una gran cantidad de enzimas y la capa de peptidoglucano. El citoplasma está contenido por esta estructura. En él están situados periféricamente los ribosomas 70S, donde se sintetizan las proteínas. Los ribosomas son sensibles a antibacterianos, tales como las tetraciclinas y el cloranfenicol. Algunos ribosomas se unen por medio de RNAm para dar los polisomas.

En la parte central del citoplasma se encuentra el nucleoide, nucleoplasma, genoide, genóforo o región nuclear. Es un solo cromosoma de DNA bicatenario enrollado, cerrado y sin membrana nuclear que se autoduplica. El nucleoide es responsable de los caracteres genéticos y puede ser afectado por algunos antimicrobianos.

Entre las estructuras que sólo presentan algunas especies, o elementos no habituales, se encuentran:

La cápsula, que está situada por fuera de la pared, en general, muy adherida a ella, y cuya composición es polisacáridica o, más excepcionalmente, polipeptídica. La cápsula le otorga más resistencia al microorganismo que la posee y, por lo tanto, una mayor virulencia. La cápsula permite la adhesión, es antigénica y facilita la identificación de los microorganismos.

El glicocálix, o sustancia laxa, o capa de limo es un producto de excreción externa, de espesor más irregular que la cápsula, no anclado a la pared. El glicocálix favorece la adhesión y protege a la bacteria de la deshidratación.

Los flagelos son apéndices filamentosos y extracelulares presentes en distinto número y ubicación, lo que permite clasificar a las bacterias en átricas, monótricas, anfítricas, lofótricas y peritricas. Están constituidos por una proteína, la flagelina. Se unen a la pared y la membrana en la zona del gancho que se inserta en el cuerpo basal.

Hay también, en algunas bacterias, filamentos axiales, son como flagelos internos. Sus funciones son la movilidad y la antigenicidad.

Las fimbrias son prolongaciones semejantes a pelos que poseen algunas bacterias; su componente es la pilina y confieren la capacidad de adherencia; los pili permiten el intercambio de material genético.

El DNA extracromosómico, o plásmidos, o episomas consiste en porciones de DNA presente en el citoplasma que pueden pasar información de una célula a otra. Cuando una bacteria está parasitada por un virus, su DNA se diferencia de otros DNA extracromosómicos en que contiene algo de proteínas virales.

Muchas bacterias presentan diversos tipos de inclusiones en forma de gránulos o vacuolas de líquidos o de gas. Las inclusiones actúan como sustancias de reserva.

Las esporas o endosporas son elementos de resistencia que aparecen en algunos microorganismos grampositivos como resultado de un proceso denominado esporogénesis. Sus constituyentes están altamente deshidratados. Poseen varias capas a su alrededor; contienen ácido dipicolínico y ion calcio. Cuando la spora se hidrata, germina y da nuevamente la célula vegetativa. Las bacterias esporuladas resisten la acción de los agentes físicos y químicos, y se usan para controlar ciclos de esterilización y para determinar la efectividad de los antisépticos y los desinfectantes.

Preguntas de revisión

1. Cite tres características de la célula bacteriana.
2. Enumere las estructuras que puede presentar una célula bacteriana completa.
3. ¿Qué tipos de pared celular conoce?
4. ¿Cómo está constituido el esqueleto de la pared celular?
5. ¿Cuál es el compuesto de la pared celular de una bacteria grampositiva que permite una mejor adherencia?
6. ¿Cómo se diferencia por MET una bacteria grampositiva de una gramnegativa?
7. ¿Qué son las porinas? ¿Qué función cumplen?
8. Cite tres funciones de la pared celular.
9. ¿Qué es un protoplasto?
10. ¿Qué es un esferoplasto?
11. ¿Qué son las formas L?
12. Detalle la ubicación, la composición y las funciones de la membrana celular.
13. ¿Qué son y dónde se encuentran los mesosomas?
14. Cite la constitución, la ubicación y las funciones de los ribosomas.
15. Mencione la composición química y las funciones del genoide.
16. Describa las características de una cápsula y explique su diferencia con la sustancia laxa o capa de limo.
17. Describa las características de los flagelos, su composición, sus funciones y antígeno.
18. Detalle qué es un pili, su composición química y su función.
19. ¿Una bacteria podría tener DNA extracromosómico? ¿Qué funciones cumpliría?
20. Cite distintos tipos de inclusiones e indique su función.
21. ¿Cómo se forma una espora? ¿Qué tipo de esporas conoce?
22. ¿Qué función cumplen las esporas?
23. ¿Qué es una célula vegetativa?

Problema 3-1

Se obtiene una muestra de esputo de un enfermo. Se hacen varias preparaciones, se colorea una de ellas con Gram, como no se ven nada más que microorganismos con distinta morfología, pero que parecen microorganismos no patógenos, comunes de boca, se colorea otra preparación con la técnica de Ziehl-Neelsen y se visualizan formas bacilares, alargadas de color rojo.

Preguntas:

1. ¿Por qué no se visualizaron estos microorganismos en la primera preparación?
2. ¿Cómo se llaman los microorganismos que se colorean con la técnica de Ziehl-Neelsen?
3. ¿Cómo está compuesta la pared celular de las bacterias de este tipo?
4. ¿Cuál es el elemento responsable de la gran virulencia en estas bacterias?
5. ¿Conoce alguna forma cocoide o espiralada con ese tipo de pared?
6. ¿De qué microorganismo podría tratarse?

BIBLIOGRAFÍA

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 3: Morfología, síntesis y estructura de la pared celular de las bacterias. En: Microbiología médica. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006, pp. 11-24.

Negróni M. Capítulo 3: Célula bacteriana. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001, pp. 13-24.

Santillán M. Capítulo 3: Morfología y estructura bacteriana. En: Basualdo JA, Coto CE, de Torres RA. Microbiología biomédica. Bacteriología, micología, virología, parasitología, inmunología. 2ª ed. Buenos Aires: Atlante, 2006, pp. 54-78.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Chapter 4: Functional anatomy and prokaryotic and eukaryotic cells. In: Microbiology. An introduction. 8th ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2004, pp. 75-110.

4

MOLLICUTES

Marta Negroni, Liliana Turcot y Luis Somaglia

Contenidos

Definición y características generales. Clasificación. Estructura y composición celular. Reproducción. Cultivos. Hábitat. Acción patógena. Micoplasmas de la cavidad bucal.

Objetivos

- Describir las características generales de los *Mollicutes*.
- Mencionar las familias que comprenden la clase *Mollicutes*.
- Enumerar diferencias entre bacterias comunes y *Mollicutes*.
- Describir las estructuras que conforman la célula micoplasmática.
- Citar los géneros y especies de *Mollicutes*, que tienen su hábitat en la cavidad bucal.
- Mencionar enfermedades relacionadas con los *Mollicutes*.

DEFINICIÓN Y CARACTERÍSTICAS GENERALES

El nombre *Mollicutes* está compuesto por **mollo**, que en latín significa blando, y **cutis**, piel. Filogenéticamente derivan de bacterias grampositivas que han sufrido una “evolución reductiva” de su genoma.

Se trata de microorganismos procariotas de vida libre que poseen un tamaño de 0,2 a 0,8 μm . Estos microorganismos atraviesan filtros que retienen bacterias. Se los ve por microscopia de campo oscuro o de contraste de fase (véase cap. 31), lo que ayuda a visualizar la motilidad de algunas especies.

Los *Mollicutes* carecen genéticamente de pared celular, por esa razón son microorganismos pleomórficos; puede visualizárselos como formas filamentosas, en ocasiones con ramificaciones, o bien, son flexibles, algo frágiles o esféricos, cocoides, cocobacilares, acampanados o piriformes y en anillo, y son débilmente gramnegativos.

La membrana celular de los *Mollicutes* de aspecto trilaminar contiene esteroides.

Pueden ser cultivados en medios artificiales, pero su crecimiento es lento (de una a seis semanas) (cuadro 4-1), son anaerobios facultativos (excepto *M.pneumoniae* que es aerobio estricto) y, por lo tanto, crecen preferentemente en ausencia de oxígeno atmosférico.

Se dividen por fisión binaria asincrónica.

Los *Mollicutes* son resistentes a la penicilina, a las cefalosporinas y a otros antimicrobianos que actúan sobre la pared celular, pero son sensibles a la tetraciclina y a la eritromicina.

CLASIFICACIÓN

Muchas veces se usa el término *Mycoplasma* como sinónimo de *Mollicutes*.

La clase de los *Mollicutes* abarca el orden I, los *Mycoplasmatales* con la familia, *Mycoplasmataceae*, en la que se incluyen los géneros *Mycoplasma* y *Ureaplasma*; el orden II, los *Entomoplasmatales* con la familia *Entomoplasmataceae*, que agrupa dos géneros, y la familia *Spiroplasmataceae* con el género *Spiroplasma*; el

Cuadro 4-1. Características de los *Mollicutes*

Tamaño	Mínimo de 0,2 a 0,8 μm
Forma	Son pleomórficos, por carecer de pared celular
Coloración	Gramnegativos
Cultivo	En medios artificiales con esteroides no requieren células vivas
Reproducción	Fisión binaria (asincrónica)
Respiración	Anaerobios facultativos, salvo <i>M. pneumoniae</i>

orden III, los *Acholeplasmatales*, en el que se ubica la familia *Acholeplasmataceae*, que comprende el género *Acholeplasma*; y el orden IV, los *Anaeroplasmatales* con la familia *Anaeroplasmataceae*, que agrupa los géneros *Anaeroplasma* y *Asteroleplasma* (cuadro 4-2).

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN CELULAR

Las células de estos microorganismos se caracterizan por **carecer de pared celular**. La estructura más externa es la membrana citoplasmática. Con el microscopio electrónico de transmisión se ve una bicapa electrodensa separada por una zona clara o translúcida, lo que le confiere el aspecto trilaminar (fig 4-1). La bicapa está integrada por proteínas y carbohidratos, y la zona clara, por lípidos.

La diferencia entre esta **membrana** y la de las bacterias estables es su **contenido de esteroles y colesterol**. El colesterol se encuentra entre los fosfolípidos. Esto le permite resistir algo mejor la presión osmótica.

Como en los otros procariotas, en esta membrana se producen reacciones metabólicas y en ella actúan antimicrobianos del tipo de los poliélicos (véase cap. 12).

Por dentro de la membrana presentan el **citoesqueleto**, constituido por monómeros de 59 kDa dispuestos en espiral de polo a polo de la célula. Esta estructura está involucrada en el proceso de **división celular**, contribuye a la **estabilidad de su forma** y su contracción determina la **movilidad celular por reptación** o deslizamiento a una velocidad de 0,1 a 7 $\mu\text{m}/\text{seg}$.

Algunas especies presentan una **cápsula de galactano** y otras tienen **espículas** semejantes a las de los *Myxovirus*, que los unen por medio de receptores de ácido murámico a células eucariotas. Esto ocurre con especies patógenas para animales.

En el citoplasma se observan los **ribosomas**, que son 70S.

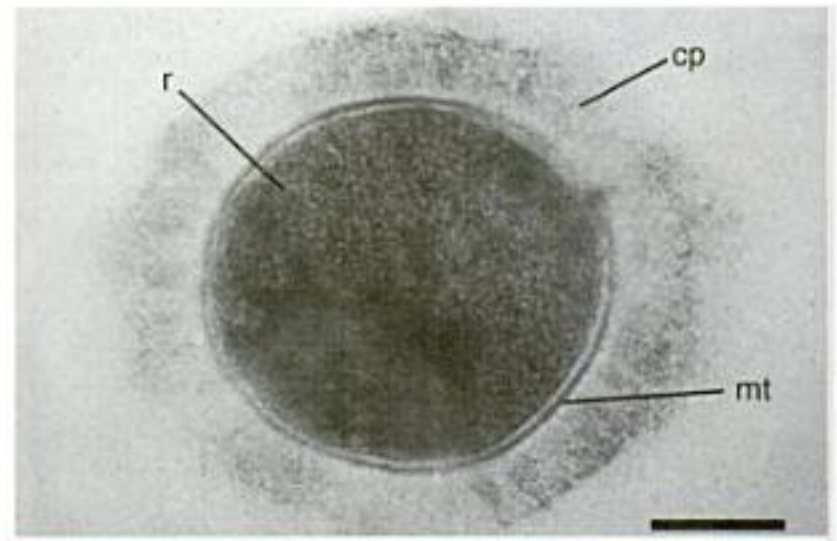


Fig. 4-1. Microscopía electrónica de transmisión de *Ureaplasma urealyticum* aislado de biofilm de placa subgingival. Cp: capa vellosa, mt: membrana trilaminar, r: ribosomas. Barra: 100 nm. Foto gentileza de la Dra. Turcot, L. y col. Cát. Microbiología. UBA.

El **cromosoma es fibrilar**; ubicado en el centro o disperso en el citoplasma, posee un tamaño de 0,58 a 2,2 megapares de bases, agrupadas en 470-688 genes, número menor que el de las bacterias típicas pero casi el doble que en los virus. Pueden poseer **plásmidos** y estar infectados con bacteriófagos. Todas estas estructuras cumplen las mismas funciones que las homólogas de las bacterias.

Por carecer de pared celular, los mayores determinantes antigénicos (véase cap. 15) de estas bacterias se encuentran en los glucolípidos y proteínas de la membrana. Como la estructura es similar a otras membranas, presentan reactividad cruzada con células de tejidos humanos y de otras bacterias.

Los micoplasmas utilizan la glucosa como fuente de energía, salvo *Ureaplasma*, que requiere urea.

REPRODUCCIÓN

Se reproducen por **fisión binaria** en forma **asincrónica**. Primero se lleva a cabo una elongación de

Cuadro 4-2. Clasificación de los Mollicutes

Familia	Género	Características
Mycoplasmataceae	<i>Mycoplasma</i>	90 especies, las más conocidas <i>M. pneumoniae</i> y <i>M. hominis</i>
Mycoplasmataceae	<i>Ureaplasma</i>	Hidrolizan la urea; se denominaban <i>Mycoplasma T</i> , por el tamaño diminuto de sus colonias
Entomoplasmataceae	<i>Entomoplasma</i> y <i>Mesoplasma</i>	Infectan insectos
Spiroplasmataceae	<i>Spiroplasma</i>	Helicoidales y móviles, infectan plantas, son transmitidos por insectos
Acholeplasmataceae	<i>Acholeplasma</i>	No requieren esteroides, <i>A. laidlawii</i>
Anaeroplasmataceae	<i>Anaeroplasma</i> y <i>Asteroleplasma</i>	Sin interés médico

las formas cocoides que dan lugar a túbulos. La división del núcleo se produce antes que la del citoplasma, lo que da lugar a filamentos multinucleados; luego la membrana se estrangula y origina algo similar a cadenas; finalmente, esas unidades se desprenden. Si el citoplasma no se escinde en dos partes iguales, es posible ver formas con el aspecto de brotes. El tiempo medio de división es de 1-3 horas.

La **unidad reproductiva mínima** puede ser del tamaño de los virus grandes, vale decir, de entre 200 y 250 nm. Las formas filamentosas pueden alcanzar tamaños de 0,4 μm de diámetro por hasta 100 μm de largo.

CULTIVOS

Debido a que poseen capacidad biosintética limitada, por carecer de genes que intervienen en la síntesis de ciertos aminoácidos, cofactores, purinas y pirimidinas, los medios de cultivo artificiales deben ser enriquecidos con suero que aportan además ácidos grasos y esteroides. En estos medios, incubados a 37 °C y en una atmósfera con 5% de CO_2 , los micoplasmas producen colonias pequeñas (100 a 300 μm) con un centro denso que se profundiza en el agar y un halo alrededor, por lo que han sido comparadas con un "huevo frito" (fig. 4-2). También crecen muy bien en cultivos de tejidos.

El género *Ureaplasma* da origen a colonias muy pequeñas o tenues, sin halo y por eso se habla de cepas T (del término inglés *tiny*: muy pequeñas) de 15 a 60 μm .

Estos agentes infecciosos suelen contaminar los cultivos de líneas celulares.



Fig. 4-2. Colonia en "huevo frito" correspondiente a *Micoplasma salivarium*. Foto gentileza del Dr. Somaglia, L. y col. Cát. Microbiología. UBA.

HÁBITAT

Los *Mollicutes* están muy difundidos en la naturaleza y pueden ser aislados a partir de plantas, insectos, diversos animales y el hombre.

El primero que se identificó, *Mycoplasma mycoides*, fue aislado a fines del siglo XIX a partir de ganado con pleuroneumonía. Los que se tipificaron después a partir de otras fuentes recibieron el nombre de microorganismos similares a los de la pleuroneumonía o **PPLO** (del inglés *pleuropneumonia-like-organisms*). Este nombre se utilizó durante muchos años, hasta que finalmente se lo reemplazó por el de *Mycoplasma*.

ACCIÓN PATÓGENA

En la actualidad se conocen alrededor de ciento noventa especies, de las cuales unas quince producen patología humana, actúan como parásitos persistentes de superficie. El daño celular puede producirse a partir del peróxido de hidrógeno o de radicales superóxido generado, así como por fusión y adhesión por glicoproteínas de superficie a células eucarióticas, activación de macrófagos, inducción de citoquinas o por efecto superantígeno de algunos componentes de la célula micoplásmica. Pueden inducir transformación maligna.

En los animales y en el hombre se los encuentra asociados con las mucosas, donde pueden causar enfermedad. En los individuos inmunodeprimidos pueden diseminarse a otros órganos y pueden actuar como cofactor de activación del SIDA. El patógeno más conocido es *M. pneumoniae*, agente causal de un tipo de neumonía atípica, traqueo-bronquitis y lesiones articulares.

M. hominis suele causar vaginitis, cervicitis, epididimitis y prostatitis.

Ureaplasma urealyticum puede ocasionar lesiones urogenitales y en algunas ocasiones se lo ha asociado con casos de esterilidad.

Acholeplasma laidlawii no requiere suero, es glucolítico. Se lo aísla de la orofaringe. Hasta el momento no se lo ha relacionado con procesos patológicos.

MICOPLASMAS DE LA CAVIDAD BUCAL

En la cavidad bucal los micoplasmas se encuentran en lugares con baja tensión de oxígeno. Por lo tanto, se los aísla del surco gingival, de las bolsas periodontales y de la parte profunda de las placas coronarias. Sin embargo, han sido recuperados de la saliva, las mucosas y las amígdalas. Las especies

más comunes son *M. orale* y *M. salivarium*, con una frecuencia que llega al 9% (véase cap. 18).

La boca también puede ser el hábitat de *M. fau-*

cium, *M. buccale*, *M. lipophilum*, *M. fermentans* y *Ureaplasma urealyticum*. Se los ha relacionado con **alteraciones gingivo-periodontales**.

Resumen

Los *Mollicutes* comprenden cuatro órdenes en los que se ubican cinco familias que incluyen ocho géneros. Los que tienen importancia médica son *Mycoplasma*, *Ureaplasma* y *Acholeplasma*, aunque este último no tiene una patogenicidad reconocida.

Son procariotas carentes de pared celular y, por ende, son pleomórficos; se trata de microorganismos muy pequeños (de 0,2 a 0,8 μm). Se dividen por fisión simple y por un proceso asincrónico que evidencia una unidad reproductiva mínima de 200 a 250 nm.

Para crecer necesitan medios acelulares que brinden una fuente de esterol, como ocurre con el suero. Son anaerobios de crecimiento lento y dan colonias que se llaman en "huevo frito". *Ureaplasma* produce colonias muy pequeñas por lo que se conoce como cepa T.

La estructura celular de los *Mollicutes* consiste en: una membrana de aspecto trilaminar formada por dos capas electrodensas entre las que se interpone una zona clara de lípidos, el citoplasma con ribosomas 70S y el genoide o nucleoide fibrilar o disperso.

Algunas especies pueden presentar cápsula y otras tienen espículas. Los *Mollicutes* no son sensibles a la penicilina, pero sí a los antimicrobianos que actúan sobre la membrana, como los poliénicos, o sobre los ribosomas. Las especies patógenas atraviesan las mucosas y producen neumonitis y afecciones del aparato urogenital. De la cavidad bucal se han aislado varias especies, pero las más comunes son *M. orale* y *M. salivarium*.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué significa el nombre *Mollicutes*?
2. ¿Cuáles pueden ser las estructuras más externas de estos microorganismos?
3. ¿Qué características morfológicas y de cultivo tienen los *Mollicutes*?
4. ¿Cuál es el mecanismo por medio del cual se reproducen?
5. ¿Qué características posee la membrana celular?
6. Mencione características del cromosoma de los *Mollicutes*.
7. ¿Qué función tiene el citoesqueleto de los *Mollicutes*?
8. ¿Qué diferencia hay entre las colonias de *Mycoplasma* y las de *Ureaplasma*?
9. ¿Qué géneros y especies son patógenas para el hombre?
10. ¿Qué géneros y especies se encuentran en la boca y con qué patología se los asocia?

Problema 4-1

En un estudio de la microbiota del biofilm de placa dental correspondiente a un sitio con enfermedad periodontal, en los cultivos en medios sintéticos pudieron observarse colonias en huevo frito.

Preguntas:

1. ¿Qué microorganismo se aisló?
2. ¿Qué característica particular posee el microorganismo aislado?
3. ¿Las técnicas microscópicas comunes son válidas para la identificación del microorganismo aislado?
4. ¿A cuáles antimicrobianos selectivos es sensible y por qué?

BIBLIOGRAFÍA

- Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. Mycoplasmas (Mollicutes) & Cell Wall-Defective Bacteria. En: Jawetz, Melnick & Adelberg's. Medical Microbiology. 20ª ed. EE.UU.: Prentice-Hall International Inc., 1995; pp. 283-7.
- Liébana Ureña J. Microbiología oral. 2ª ed. Madrid: Interamericana-McGraw-Hill, 2002; pp. 313-315.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 44: Mycoplasma y Ureaplasma. En: Microbiología médica. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006; pp. 443-447.
- Sauka DH, Scigliano PM, Lerea MA, Entrocassi AC. Micoplasmas. En: Basualdo JA, Coto CE, de Torre RA. Microbiología biomédica. Bacteriología, Micología, Virología, Parasitología, Inmunología. 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Atlante, 2006; pp. 528-38.
- Taylor-Robinson D. Mycoplasma and Ureaplasma. In: Manual of clinical microbiology. 6ª ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1995; pp. 652-61.

RICKETTSIAS, CLAMIDIAS Y NANOBACTERIAS

1º PARTE

RICKETTSIAS Y CLAMIDIAS

Marta Negroni, Liliana Turcot y Luis Somaglia

Contenidos

Rickettsias. Características generales. Estructura celular. Cultivo y reproducción. Clasificación y acción patógena. Prevención. Clamidias. Reproducción. Clasificación y acción patógena.

Objetivos

- Citar tres características importantes de las rickettsias.
- Establecer similitudes y diferencias entre las rickettsias y las clamidias.
- Citar formas de transmisión de las rickettsiosis.
- Citar el mecanismo de transmisión de las clamidias.
- Establecer similitudes y diferencias entre las rickettsias, las clamidias, las bacterias y los virus.

RICKETTSIAS

Se denominan así en homenaje a Howard T. Ricketts, científico que las estudió y murió de tífus en 1910, por contaminación accidental durante sus investigaciones.

Originan las rickettsiosis, enfermedades infecciosas zoonóticas de distribución universal, transmitidas por artrópodos (piojos, pulgas, garrapatas, ácaros) que pueden desempeñarse tanto de vector como de reservorios; éstos infestan e infectan una gran variedad de animales vertebrados silvestres y a seres humanos, en quienes producen enfermedades de gravedad leve a fulminante y en ciertos casos infecciones persistentes, que los convierten en reservorio continuo de la enfermedad.

Características generales

Se trata de microorganismos **procariotas** que se comportan como **parásitos intracelulares estrictos**. Pertenecen al Dominio *Bacteria* Phylum: Proteobacteria, orden: *Rickettsiales*.

Tienen **forma bacilar, cocobacilar o son pleomórficas** y su tamaño es de alrededor de 0,3 por 1,2 μm . Son gérmenes **gramnegativos aerobios**.

No se colorean bien con la coloración de Gram, pero sí con las de Giemsa o de Giménez (véase cap. 31), que permiten visualizarlas con el microscopio óptico compuesto.

A semejanza de las bacterias, tienen los dos ácidos nucleicos, **DNA y RNA**, y **ribosomas** para la

síntesis de proteínas. En general, no pueden metabolizar la glucosa como sustrato; **pueden sintetizar ADP, pero no ATP** (o sólo en cantidades insuficientes), el cual obtienen de la célula hospedadora. Se cree que este parasitismo energético obligado se debe a un **sistema inusual de transporte** a nivel de sus membranas, mediado por una enzima –la translocasa– que intercambia el ADP bacteriano por ATP celular, además de otros metabolitos esenciales (aminoácidos y nucleótidos) presentes en el citoplasma de la célula eucariota (cuadro 5-1).

Estructura celular

Las rickettsias poseen dos envolturas: la membrana citoplasmática –interna– y la pared celular –más externa– en la que es posible identificar dos capas: una interior electrodensa de peptidoglucano, ácido murámico y ácido diaminopimélico y otra más externa de lipopolisacárido (con débil actividad de endotoxina), separadas por un espacio periplásmico; estas características estructurales las relacionan con las bacterias y con los virus por la particularidad de requerir células vivas para su desarrollo. No tienen flagelos y están rodeadas por una biopelícula poco adherente. El genoma, de 1,1 Mpb (Mega-pares de bases), es más pequeño que el de las bacterias convencionales y contiene 834 genes.

Muchos genes ausentes, que son necesarios para la biosíntesis de aminoácidos y nucleósidos en las rickettsias, son reemplazados funcionalmente por genes homólogos del genoma del hospedador.

Cuadro 5-1. Características de los Rickettsiales

Técnica de tinción	Giemsa, Giménez: para tejidos, Wright: para sangre
Transmisión de la infección	Inoculación transdérmica o mucosa, de saliva o heces contaminadas; inhalación de heces secas contaminadas, en forma de polvo.
Infectan	Células de epitelios vasculares, de epitelios mucosos, granulocitos, monocitos-macrófagos, eritrocitos y plaquetas.
Sensibilidad a los antibióticos	De amplio espectro: tetraciclinas, cloranfenicol.

Cultivo y reproducción

Debido a que no desarrollan en medios inertes, puede cultivárselas en huevos embrionados, animales de experimentación o en cultivos de células -de mamíferos o artrópodos- a temperaturas de 33 a 35 °C, donde crecen en abundancia. Se reproducen por **fisión binaria** en el citoplasma (y ocasionalmente en el núcleo) de las células que infectan, principalmente células endoteliales y linfoides circulantes. El tiempo de generación es de 8 a 10 o 2 horas y pueden producir hasta 800 bacterias por célula (ver mecanismo de reproducción en "acción patógena"). Son **agentes patógenos de muy alto riesgo**, por lo que se evita su manipulación para cultivo: la dosis infecciosa mínima es de menos de diez bacterias. Para el diagnóstico de estas infecciones se emplean la inmunofluorescencia directa (ver cap. 31-6), técnicas de histoquímica con anticuerpos monoclonales o PCR (reacción en cadena de polimerasa) (ver cap. 28) sobre muestras de biopsia, sangre o costras de lesiones cutáneas.

Clasificación y acción patógena

El estudio de las rickettsias con las nuevas tecnologías de análisis genético (PCR) ha generado una reagrupación del orden *Rickettsiales*, dentro del cual se ubican dos familias, la *Rickettsiaceae* y la *Anaplasmataceae*.

La *Rickettsiaceae* comprende dos géneros: *Orientia* (especie *tsutsugamushi*: agente del tifus de los matorrales, transmitida por ácaros) y *Rickettsia*: con el grupo "tifus" (especies: *R. prowazekii* y *R. typhi*) y el grupo de "la fiebre moteada" (especies *R. rickettsii*, *R. akari*, *R. conori*, *R. siberica* y *R. africae*).

La familia *Anaplasmataceae* comprende los géneros *Anaplasma* y *Ehrlichia* (transmitidas por garrapatas), con las especies tipo *A. phagocytophilum* (causante de la anaplasmosis granulocítica humana) y la *E. chaffensis* (origen de la ehrlichiosis monocítica humana que afecta principalmente,

no a los granulocitos de la sangre como lo hace *Anaplasma*, sino a la serie monocito-macrófago, y en menor grado a plaquetas y eritrocitos). Esta capacidad de destruir células del sistema inmune genera inmunodeficiencias secundarias que predisponen a infecciones oportunistas muy severas en pacientes HIV positivos.

Se han excluido de las *Rickettsiales* a *Coxiella* por pertenecer a otro grupo filogenético (*C. burnetti*: agente de la fiebre Q, reagrupadas en el orden *Legionellales*) y a *Bartonella*, quienes pueden desarrollar en medios sintéticos artificiales, comportándose como parásitos endocelulares facultativos (p. ej. *Bartonella* -ex *Rochalimaeae-quintana* agente de la "fiebre de las trincheras", ahora en el orden *Rhizobiales* junto con *Brucella*).

La infección por rickettsias es **transmitida por picaduras de ácaros o garrapatas y por las deyecciones contaminadas de piojos, pulgas y ratas. Reconocen algunos animales como reservorio (ver cap. 17).**

Las rickettsias penetran en las células por medio de un mecanismo de **fagocitosis inducida por el parásito** y quedan dentro de un fagosoma. Casi inmediatamente la enzima fosfolipasa A2 de las rickettsias destruye la membrana fagosómica -evitan así la acción lítica de los lisosomas- y los microorganismos se esparcen y reproducen activamente en el citoplasma eucariota hasta que su número destruye la célula y se liberan para reiniciar el ciclo. En algunas especies, la liberación se produce por exocitosis con filopodios o por pasaje intercelular sin lisis.

La característica más importante de las rickettsias es que **se multiplican dentro de las células endoteliales** de los capilares de la piel, cerebro y corazón; inicialmente producen una depleción de ATP, seguida de pérdida de sodio y agua, la acumulación de catabolitos bacterianos, la liberación de endotoxinas y daño celular por la formación de intermediarios reactivos de oxígeno (IRO: ej. anión superóxido) que finalmente producen la lisis de la célula hospedadora. Esto se traduce en lesiones vasculares (vasculitis), con formación de trombos -de plaquetas, leucocitos y macrófagos- que generan gangrenas distales a las trombosis, alteración de la permeabilidad capilar, exantemas, fiebre y manifestaciones sistémicas graves como el shock séptico. No hay evidencias de que produzcan toxinas. Pueden originar cuadros fulminantes en pacientes HIV positivos.

La *Rickettsia prowazekii* produce el tifus epidémico (o exantemático); el reservorio es el **hombre** o la ardilla y el vector es el piojo por medio de sus heces contaminadas. Se detecta principalmente en Sudamérica y Asia.

Rickettsia typhi es la causa del tifus murino o endémico; el reservorio son las ratas y las pulgas, y el vector, las pulgas, mediante sus heces contaminadas. El hombre se infecta al frotar las heces sobre la herida generada por la picadura. Es de distribución universal.

La *Orientia tsutsugamushi* es el agente etiológico del tifus de los matorrales y se transmite por la saliva infectada que regurgitan las larvas de ácaros (a la vez reservorios y vectores) al picar la piel del humano, donde produce una escara necrótica de importante valor diagnóstico. Es de notar que las garrapatas pueden sobrevivir sin alimentarse durante cuatro años.

Estas enfermedades infecciosas se consideran actualmente emergentes, esto es, que han aumentado su incidencia y prevalencia en los últimos veinte años, ampliando además tanto el área geográfica de distribución como el tipo y número de vectores o reservorios. Esto puede atribuirse, entre otros factores, al contacto humano con los agentes infecciosos presentes en zonas geográficas “salvajes” que se convierten circunstancialmente en áreas de guerra, de nuevos asentamientos o de exploración y explotación económica –que generan cambios ecológicos críticos– y por actividades turísticas o deportivas “extremas”. También por el contacto o comercio con animales silvestres o mascotas (que actúan como reservorios) infestadas de vectores infectados con rickettsias.

En nuestro país se han comunicado casos clínicos provocados por *Rickettsia prowazekii*, *R. rickettsii*, *R. conorii* y *R. akari*.

Por último, se consideran como gérmenes aptos para armas biológicas (Categoría B: de diseminación a gran escala con moderado impacto médico) a *R. prowazekii*, junto con *Coxiella burnetti* y *Chlamydia psittacci*.

Prevención

Usar ropa que cubra lo más posible las partes expuestas del cuerpo, especialmente en zonas endémicas. Usar repelentes. Desprender las garrapatas adheridas.

CLAMIDIAS

Las clamidias son bacterias muy semejantes a las rickettsias, pero tienen un **ciclo intracelular de reproducción más complejo**. Comparten con ellas y los virus la condición de ser **parásitos intracelulares estrictos**. De hecho, antes de 1952 se las consideraba virus grandes.

Son formas cocoideas, inmóviles, con membrana citoplasmática y ribosomas; **no poseen peptidoglucano** en su pared gramnegativa, con aspecto de bicapa separadas por un espacio periplásmico. No poseen cápsulas ni flagelos. Pueden tener pro-

Cuadro 5-2. Características principales y comparativas de las rickettsias y las clamidias

Características	Rickettsias	Clamidias
Forma	Bacilar, cocobacilar, pleomórficas	Más cocoides
Tamaño	0,3 × 1,2 μm	0,3 a 1 μm
Pared celular	Con peptidoglucano	Sin peptidoglucano
Ribosomas	Sí	Sí
Ácidos nucleicos	Ambos	Ambos
División	Binaria	Binaria y mecanismo complejo
Síntesis de macromoléculas	Sí	Sí
Cultivos	En células vivas	En células vivas
Técnica de tinción	Giemsa	Giemsa
Infectan	Células en endotelios vasculares	Células epiteliales mucosas no ciliadas, cilíndricas o cuboides
Transmisión de la infección	Por artrópodos y ratas	Por contacto directo
Sensibilidad a antibióticos	De amplio espectro	De amplio espectro

yecciones en su superficie, y un complejo grupo de proteínas en la membrana externa responsables de la gran variabilidad antigénica, del tropismo y la infectividad; uno de estos péptidos es semejante a la miosina cardíaca e induce miocarditis. Poseen los dos ácidos nucleicos, pero **no producen su propio ATP**, por lo cual las ATP/ADP transferasas están presentes en todas las especies de clamidias. Su genoma es de 1,23 Mpb. Como no se han detectado citocromos ni flavoproteínas, **se cree que son anaerobios**. Se colorean muy poco con la tinción de Gram, lo hacen mejor con la de Giemsa. El tamaño mínimo en una parte de su ciclo reproductivo es de 300 a 350 nm; estas partículas electrodensas, con aspecto de flor o roseta, se denominan **cuerpo elemental (CE)**. Esta estructura metabólicamente inactiva es infecciosa, extracelular, rígida, resistente a la rotura y a la desecación. No requieren atropodos para la transmisión a humanos (véase cuadro 5-2).

Reproducción

Se multiplican en vesículas dentro del citoplasma de la célula hospedadora, mediante un ciclo complejo, con dos etapas (ciclo bifásico).

Después de adherirse el cuerpo elemental (CE) a receptores específicos, penetra en la célula hospedadora por medio de un proceso comparable a la fagocitosis (endocitosis). Estos CE que permanecen dentro del fagosoma e inhiben la fusión de los gránulos lisosomales aumentan de tamaño hasta

llegar a los 800-1000 nm y se tornan esféricos, más frágiles, menos densos y ricos en RNA: en esta etapa del ciclo no son infecciosos, pero sí metabólicamente activos y se denominan **cuerpos reticulados (CR)**. Dentro de las vesículas fagosómicas, estos CR se multiplican por fisión binaria y producen microorganismos pleomórficos. En este estadio pueden visualizarse **inclusiones intracitoplasmáticas responsables del nombre** (del griego *chlamy*: manto, por la envoltura). Una vez que se han multiplicado, los CR se condensan y dan origen a los CE que, por autólisis celular, quedan libres y con capacidad de infectar otras células (véase fig. 5-1). Se estima que este ciclo "in vivo" demora de 48 a 72 horas, como ocurre en los cultivos celulares.

Clasificación y acción patógena

Pertencen al Dominio *Bacteria* Pylum XVI *Chamydial*.

Los estudios filogenéticos efectuados con PCR han generado una reclasificación del orden *Chlamydiales*. La familia *Chlamydiaceae* comprende dos géneros: *Chlamydophila* (*Cp*), con **tres especies patógenas para el hombre**: *Cp. psittaci*, *Cp. pneumoniae* y *Cp. abortus*. Y el género *Chlamydia* (*C*), con el patógeno humano, *Chlamydia trachomatis*.

In vivo, las clamidias **infectan células linfoides, epiteliales no ciliadas, cilíndricas o cúbicas de diferentes mucosas**: conjuntiva, endocérvix,

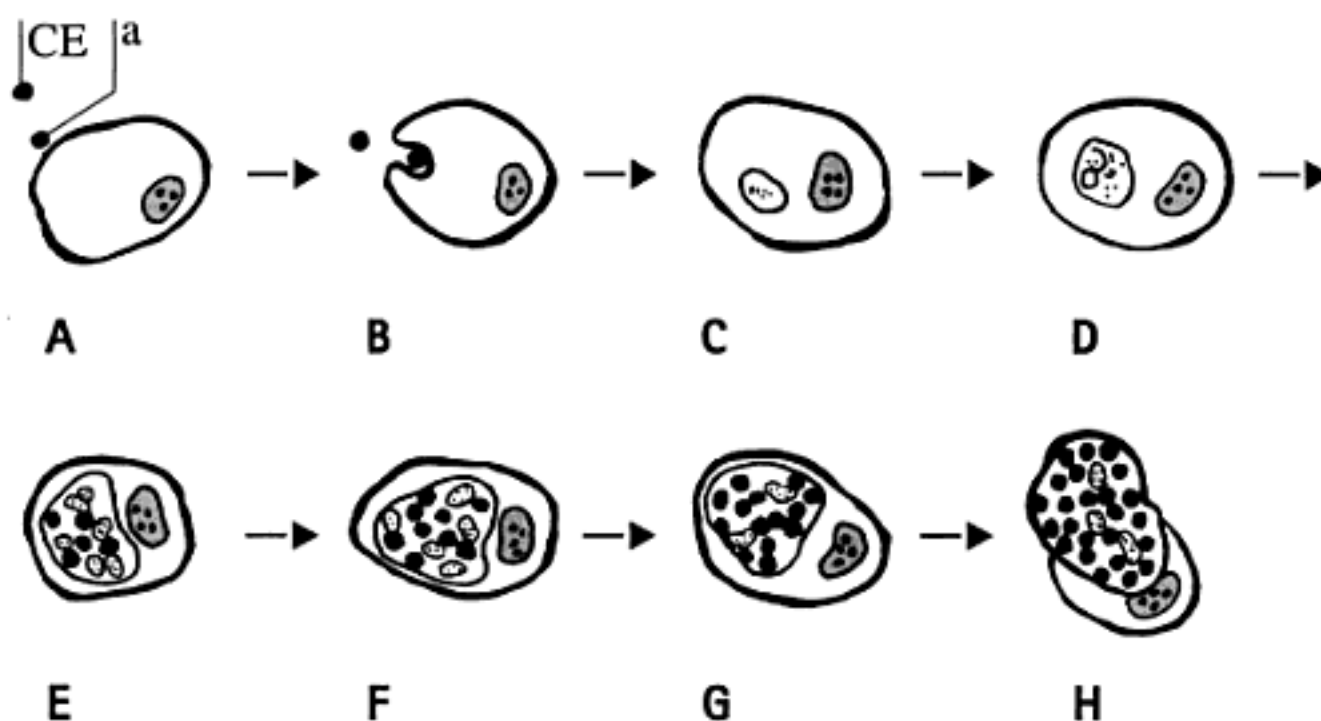


Fig. 5-1. Ciclo replicativo de *Chlamydia*. CE: cuerpo elemental; a: adhesión a la célula. A. Célula susceptible a la infección. B. Ingestión. C. Formación del cuerpo reticulado (CR). D. Fisión binaria del CR. E. Reorganización para formar el CE. F. Inclusión que contiene CR y CE. G. Continuación de la reorganización. H. Eliminación del CE por exocitosis inversa.

recto, endometrio, genitourinarias y trompas de Falopio. La injuria celular se produce por la lisis y probablemente por acción de toxinas o reacciones autoinmunes.

C. trachomatis (transmitida de persona a persona por secreciones oculares infectadas o por moscas que actúan como vector mecánico de las secreciones infectadas) comprende dos biovariedades: a) que originan el tracoma y la conjuntivitis de inclusión (infección ocular que causa ceguera) y b) enfermedades de transmisión sexual: el linfogranuloma venéreo (LGV) con tropismo por células linfoides. Entre otras patologías producen uretritis, cervicitis, miocarditis y artritis de la ATM (articulación temporo mandibular). Se lo ha asociado a la aterosclerosis, aunque dan reacción cruzada con las nanobacterias (agente más probablemente relacionado con esta patología circulatoria: véase "Nanobacterias").

Cp. psittaci causa ornitosis y psitacosis transmitida al hombre por las deyecciones contaminadas de aves, que actúan de reservorios. Producen desde neumonías y fiebre de origen desconocido hasta un síndrome tóxico fulminante.

Cp. pneumoniae origina neumonías atípicas, bronquitis, faringitis, sinusitis.

Se las identifica por inmunofluorescencia, ELISA y PCR (véanse caps. 28 y 31-6).

En el campo estomatológico, las clamidias pueden producir el "síndrome de Reiter": manifestado por artritis, uretritis, conjuntivitis y lesiones bucales eritematosas, a veces con bordes blanquecinos o como erosiones superficiales dolorosas. En muy pocas ocasiones se manifiestan con parálisis facial y artritis de la ATM.

Así como las rickettsiosis, las clamidiosis son patologías emergentes.

Resumen

Las características principales y comparativas de estos dos grupos se resumen en los cuadros 5-1 y 5-2.

Preguntas de revisión

1. Describa las características generales de las rickettsias.
2. ¿Qué familias se ubican dentro del orden *Rickettsiales*?
3. ¿Dentro de qué géneros se encuentran los patógenos humanos?
4. ¿Cómo se produce el ingreso de las rickettsias en las células del hospedero?
5. ¿Qué tipo de lesiones producen las rickettsias?
6. Mencione dos enfermedades causadas por rickettsias y sus respectivos agentes etiológicos.
7. Describa las características generales de las clamidias.
8. ¿Qué es el cuerpo elemental?
9. ¿Qué es el cuerpo reticulado?
10. ¿Qué especies patógenas para el hombre conoce?

BIBLIOGRAFÍA

Gorodner JO. Enfermedades infecciosas. 2ª ed. Rosario: Corpus Librus, 2004; pp. 380-394.
 Liébana Ureña J. Microbiología oral. 2ª ed. Madrid: Interamericana-McGraw-Hill, 2002; pp. 313-315.
 Mettler N. Rickettsiales. En: Carballal G, Oubiña J. Virología médica. 2ª ed. Buenos Aires: El Ateneo, 1996; pp. 497- 507.
 Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 45: *Rickettsias*

y *Orientia*; Capítulo 47: *Chlamydia*. En: Microbiología médica. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006.

Negróni M. Capítulo 5: Rickettsias y Clamidias. En: Negróni M. Microbiología Restomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1999; pp. 29-32.

Palmieri OJ. Capítulo 33: Enfermedades por rickettsias; Capítulo 40: Infecciones por clamidias. En: Enfermedades infecciosas. 1ª ed. Chile: Interamericana-McGraw-Hill, 2001.

Contenidos

Nanobacterias

Objetivos

- Citar las características importantes de las nanobacterias.
- Explicar los mecanismos de la acción patógena de las nanobacterias.
- Describir afecciones clínicas de importancia médico-odontológica.
- Citar formas de transmisión de las nanobacterias.
- Mencionar los métodos de control físico-químicos para las nanobacterias.

NANOBACTERIAS

Del conjunto de bacterias atípicas, que incluyen *Mollicutes*, *Rickettsia* y *Chlamydia*, muy probablemente las *nanobacterias* Nb, denominadas también nanopartículas calcificantes) sean las más sorprendentes. **Son los seres vivos más pequeños reconocidos hasta el momento con vida independiente autoreplicante.** Están presentes en el aire, agua, suelos y en los seres vivos (incluidas la orina, sangre, saliva y biofilm de placa dental). Descubiertas y cultivadas por Olavi Kajander en 1985 en medios para cultivos celulares y luego en muestras de sangre humana, recibieron la denominación de *Nanobacterium sanguineum*. Presentan **formas pleomórficas o cocoideas, con tamaño que oscilan entre 50 nm a 500 nm** (en teoría, insuficiente para contener los componentes necesarios para la actividad metabólica, cuyo mínimo esencial sería de 80 a 130 nm). Las características ambientales determinan su crecimiento, forma, tamaño y agrupación. Su pared celular tiene componentes típicos de bacterias gramnegativas (peptidoglucano con ácido murámico, lipopolisacáridos y porinas). Poseen RNA y su DNA –demostrado por la tinción cuantitativa de Hoechst (específico para DNA)– indicaría un genoma de 0,58 Mpb. Pueden identificarse con anticuerpos monoclonales (véase cap. 15) y por PCR (véase cap. 28) no convencionales.

Su tiempo de reproducción binaria oscila entre tres y seis días. Crecen en medios artificiales, con metabolismo lento; **producen una cubierta externa protectora de apatita (fosfato de calcio), que se incrementa con aposiciones sucesivas hasta llegar a formaciones esféricas de 10 µm** y que le permite resistir a los antimicrobianos y condiciones ambientales extremas. Estas estructuras coalescen y forman colonias de 1 mm en las placas de cultivo. Las nanobacterias o los oligopéptidos que liberan pueden actuar como nidos o núcleos biogénicos de mineralización (que no se producen con Nb muertas) y mediar la formación de cristales de fosfato de calcio en medios fisiológicos no saturados de soluciones de fosfato y calcio, a pH neutro. Esta característica le permite participar en toda **calcificación extraesquelética**, como la formación de cálculos renales (fig. 5-2), biliares, salivales, dentales, agujas cálcicas pulpares y aún las placas de ateroma o en calcificaciones mamarias, tendinosas y tumorales. Las calcificaciones patológicas serían secundarias a las infecciones por nanobacterias.

Debido a que las nanobacterias tienen y liberan endotoxinas que median una respuesta inflamatoria local crónica en las placas de ateroma y a que la apatita puede activar la cascada trombótica, se las asocia al infarto agudo de miocardio. Casi el 100% de los sueros de pacientes arterioscleróticos presentan anticuerpos anti-nanobacterias en su suero (80% en pacientes dializados y sólo 15% en



Fig. 5-2. Cálculo renal: formas dendriformes de diversos tamaños sobre la superficie de cristales de oxalato, compatibles con nanopartículas calcificantes. MEB: barra 5000 nm. Foto gentileza del Dr. Somaglia y col. Cát. Microbiología UBA.

pacientes sanos, que por diálisis, transfusiones o donaciones incrementan progresivamente la población contaminada). La infección probablemente persista toda la vida.

Son resistentes al autoclavado en sus vainas cálcicas, pero las formas no cubiertas mueren a 90 °C en una hora; soportan la radiación ultravioleta, la radiación gama hasta 2,5 megarads (15 kGy: kilogray o dosis absorbida), atraviesan los filtros "esterilizantes" de 100 nm, resisten a las penicilinas y aminoglucósidos, aunque son sensibles a la tetraciclina y a quelantes del calcio (EDTA: ácido etilendiaminotetracético).

Su presencia en el suero fetal bovino actúa como contaminante de cultivos de micoplasmas, de los cultivos de tejidos y de los productos elaborados a partir de ellos, como las vacunas; en las líneas celulares podrían afectar las capacidades metabólicas, inmunogénicas y de desarrollo de las células normales o malignas propagadas "in vitro".

BIBLIOGRAFÍA

Ciftcioglu, N et al: Nanobacteria: an infectious cause for kidney stone formation. *Kidney Int.* 1999; 56: 1893-1898.

Kajander, EO, Ciftcioglu, N. Nanobacteria; An alternative mechanism for pathogenic intra and extracellular calcification and stone formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* July 7, 1998; 95 (4): 8274-8279.

CRECIMIENTO, NUTRICIÓN Y METABOLISMO BACTERIANOS

Marta Negroni

Contenidos

Nutrientes. Nutrientes esenciales o básicos. Factores de crecimiento. Factores estimulantes. Categorías nutritivas. Fotoautótrofos. Fotoheterótrofos. Quimioautótrofos. Quimioheterótrofos. Crecimiento bacteriano. Tiempo de generación. Curva de crecimiento. Técnicas para determinar el número y la viabilidad de las células. Efecto de la temperatura. Sicrofilos. Mesófilos. Termófilos. Condiciones de pH. Presión osmótica. Condiciones atmosféricas. Aerobios. Anaerobios. Microaerófilos. Metabolismo. Enzimas. Medios de cultivo. Clasificación.

Objetivos

- Definir un nutriente.
- Identificar los distintos tipos de nutrientes que requieren las bacterias.
- Clasificar las bacterias según el tipo de nutrición.
- Diferenciar los tipos de "respiración" bacteriana.
- Definir enzimas. Reconocer los grupos más importantes de ellas en el metabolismo bacteriano.
- Definir el metabolismo y establecer las diferencias entre anabolismo y catabolismo.
- Describir el fenómeno de fermentación y enumerar algunos de sus productos.
- Enumerar los factores que afectan la actividad metabólica.
- Esquematizar la curva de crecimiento bacteriano y explicar sus etapas.
- Explicar el proceso de división bacteriana.
- Definir medios de cultivo y condiciones que deben cumplir.
- Enumerar los distintos tipos de medios de cultivo.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de las condiciones que requiere un microorganismo para crecer y multiplicarse es imprescindible para obtenerlo en el laboratorio (cultivos) y también para combatirlo o evitar su proliferación. Estos conocimientos se utilizan además como parte de los métodos de clasificación.

En primer lugar es necesario recordar que las bacterias, como otros seres vivos, están constituidas por alrededor de 80% de agua y el resto es peso seco. En ese peso seco el principal compuesto está representado por las proteínas, seguidas por los ácidos nucleicos y cantidades menores de polisacáridos, lípidos y peptidoglucano, además de otros compuestos de peso molecular más bajo. Indudablemente es necesario que el ambiente en el que se encuentren las células sea natural o artificial, pueda brindarles esas sustancias y la energía

necesaria para que se produzcan las reacciones. Algunas sustancias deben poder penetrar en la célula para transformarse en sus compuestos estructurales: **biosíntesis**.

En realidad, la nutrición y el metabolismo de las bacterias no difieren mucho de los de las células de los organismos superiores, de modo que el lector podrá ampliar este tema en tratados de fisiología. Aquí sólo se abordarán los aspectos más salientes o diferenciales respecto del metabolismo de otras células. Comenzaremos por ver qué es un **nutriente**.

NUTRIENTES

Los nutrientes son las sustancias que debe incorporar un microorganismo para garantizar su supervivencia, es decir que le **provean energía y los elementos necesarios para realizar la síntesis de sus estructuras celulares**.

Los nutrientes ingresan en las células por **absorción**, no por ingestión.

La **viabilidad** de un microorganismo está dada por su **capacidad de multiplicación**.

Los nutrientes que requieren los procariotas y muchos eucariotas pueden diferenciarse en:

Nutrientes esenciales o básicos

Los nutrientes esenciales son los que puede asimilar el microorganismo por simple difusión o por transporte activo e incluyen el agua, las fuentes de carbono y compuestos del nitrógeno en forma de sales.

Los microorganismos también requieren otras sustancias, como fósforo, que toman de fosfatos inorgánicos.

Otros nutrientes

En general, son iones de potasio, magnesio u otros.

Oligoelementos

Son los nutrientes necesarios en muy pequeñas concentraciones. Se trata de hierro, cobre, cobalto u otros.

Factores de crecimiento

También conocidos como **factores orgánicos**, son sustancias que las células no pueden sintetizar y comprenden vitaminas y algunos aminoácidos, aunque en esto hay una gran variabilidad, según el microorganismo.

Factores estimulantes

Son los que influyen en el proceso de crecimiento de las bacterias, aunque no son imprescindibles; pero el proceso es más rápido y mejor en presencia de ellos.

CATEGORÍAS NUTRITIVAS

Las bacterias pueden ser categorizadas según la fuente de carbono que utilicen (es decir, si se trata de **carbono orgánico** o de **carbono inorgánico**) y según de dónde obtengan la energía necesaria para llevar a cabo las distintas reacciones propias del metabolismo.

Según la **fuentes de carbono** las bacterias son **autótrofas** o **litótrofas**, mientras que otro grupo se encuadra en las **heterótrofas** u **organótrofas**. Las

primeras utilizan dióxido de carbono y las segundas requieren una fuente de carbono orgánica.

De acuerdo con el origen de la energía que emplean las bacterias son **fotótrofas** cuando captan la luz o la energía radiante y **quimiótrofas** cuando son incapaces de aprovechar esta fuente y obtienen la energía a partir de reacciones químicas. Dependen de la energía que suministra el ATP (adenosín trifosfato), como las células de los mamíferos. Cuando se combinan estas dos situaciones, la fuente de carbono y la fuente de energía, los microorganismos pueden categorizarse de la siguiente manera según sus requerimientos nutritivos:

Fotoautótrofos

Estos microorganismos requieren luz para obtener su energía, es decir que son fotosintéticos, mientras que el carbono proviene del dióxido de carbono.

Fotoheterótrofos

Como su nombre lo indica, estos microorganismos utilizan energía lumínica, pero incorporan carbono en forma de compuestos orgánicos, como alcoholes, ácidos grasos, otros ácidos orgánicos e hidratos de carbono.

Quimioautótrofos

Estos microorganismos obtienen la energía que necesitan de las reacciones químicas, pero incorporan carbono a partir del dióxido de carbono.

Quimioheterótrofos

Casi todos los microorganismos patógenos que infectan al ser humano pertenecen a esta categoría. Estos microorganismos obtienen energía por medio de reacciones químicas; el carbono proviene de compuestos orgánicos (glucosa, lípidos, proteínas). El más utilizado es el carbono de la glucosa. En este caso la fuente de energía y de carbono es la misma. Por lo tanto, la diferenciación entre las dos fuentes es difícil.

Unos pocos microorganismos pueden ubicarse indistintamente en una u otra categoría, de acuerdo con el entorno en el que se encuentren.

Los microorganismos que se comportan como parásitos necesitan estas condiciones. Estos microorganismos utilizan los carbohidratos y los aminoácidos que encuentran en los líquidos o los tejidos del hospedador.

CRECIMIENTO BACTERIANO

El crecimiento bacteriano no se caracteriza por un aumento del tamaño, sino por un aumento del número.

En los organismos pluricelulares el crecimiento implica un aumento de tamaño. Como entre estos organismos cada especie tiene un tamaño más o menos estable, lo que se interpreta como crecimiento bacteriano en realidad es la división o multiplicación bacteriana. Este proceso se realiza por **fiación simple** o **binaria**, como ya se dijo, que se inicia en la parte media de la célula.

La célula aumenta de volumen, lo que en los bacilos se traduce en elongación; el DNA cromosómico se autoduplica, va produciéndose un tabique en la parte central de la célula por la invaginación de la membrana celular, acompañada de la síntesis de pared. Como resultado, quedan dos células hijas exactamente iguales.

Tiempo de generación

El tiempo en el que se produce la **duplicación de las células** se conoce como **tiempo de generación**. Este proceso no alcanza la misma velocidad en todas las especies, sino que es distintivo de cada una, aunque hay factores estimulantes que pueden influir.

Los microorganismos de tiempo de generación corto son capaces de realizar la división en alrededor de veinte minutos, como *Escherichia coli*, mientras que otros necesitan hasta 24 horas.

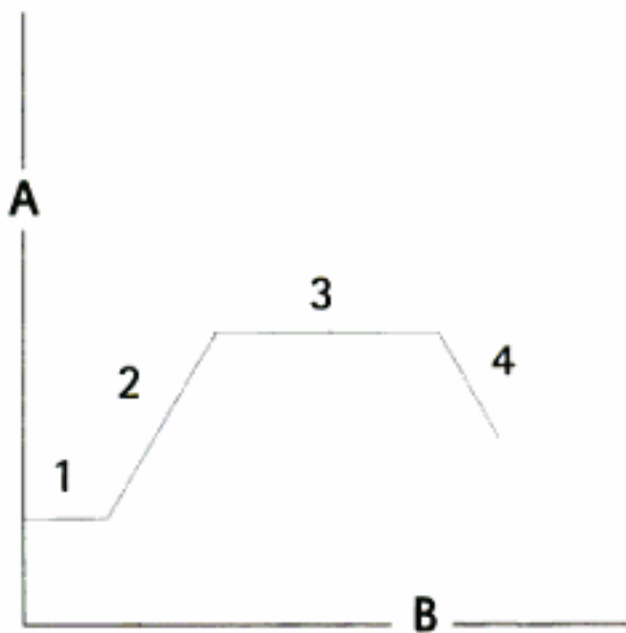


Fig. 6-1. Esquemática de una curva de crecimiento bacteriano. **A.** Logaritmo del número de células. **B.** Tiempo. 1. Fase de latencia. 2. Fase de crecimiento exponencial o logarítmico. 3. Fase estacionaria. 4. Fase de declinación o muerte.

Curva de crecimiento

Si se coloca una bacteria en un ambiente propicio para su desarrollo y se trata de esquematizar en un gráfico de coordenadas el número de bacterias presentes en un lapso determinado, se aprecia que el gráfico describe una curva que no es igual para todas ellas, aunque en todas pueden distinguirse distintas fases (fig. 6-1).

Fase de latencia

Si se han contado las bacterias que se colocaron en el medio de cultivo y se las vuelve a contar durante este período, se advertirá que no hay variaciones en el número de microorganismos. Sin embargo, las células no están inactivas. Se están adaptando al medio, para lo cual sintetizan enzimas. Este período dura un tiempo variable y, según el microorganismo, puede ser de una hora o de varios días.

Si bien el número de células no varía, puede ser que éstas aumenten algo de tamaño debido a que se va a producir la división.

Fase exponencial o de crecimiento logarítmico

Dado que las células se duplican, existe una relación lineal entre el tiempo y el número de elementos. La actividad metabólica se incrementa notablemente. Además, este período está sujeto al tiempo de generación del microorganismo. Ésta es la etapa del crecimiento en la que los antimicrobianos son más efectivos.

No obstante, debe considerarse la posibilidad de que *in vivo* esta representación gráfica no sea igual, porque hay factores físicos y químicos que influyen en el crecimiento de estos microorganismos.

Fase estacionaria

Una vez que ha llegado a determinado punto, el crecimiento disminuye. No hay aumento de la población. El número se estabiliza porque las células nuevas reemplazan a las que ya han muerto. La actividad metabólica de las que permanecen viables es más lenta. O tal vez no haya células nuevas ni muertas, sino que sólo se encontrarían en "animación suspendida". En este momento existe una cantidad considerable de inclusiones de distinto tipo o almacenamiento de polímeros intracelulares. Es el período en el que pueden producirse **metabolitos secundarios**, como **antibióticos**, **toxinas u otros productos**. También es el momento de iniciación de la **esporogénesis** en las especies que poseen esa capacidad (véase cap. 3).

Fase de declinación o muerte

En esta fase el recuento de elementos disminuye sensiblemente. Aunque quedan células vivas, su número es sobrepasado por el de las células muertas. Esto se debe a la acumulación de productos tóxicos y a la falta de nutrientes. Si esta fase apareciera muy pronto, sería un factor importante para autolimitar la diseminación de una infección.

Técnicas para determinar el número y la viabilidad de las células

¿Cómo se mide el número de células?

Existen distintas técnicas. Una de ellas consiste en contar en el microscopio el número de células en un volumen conocido. Para ello se utilizan pipetas especiales y portaobjetos con una excavación en la que cabe una cantidad determinada y que además poseen zonas circunscriptas; se cuentan los elementos de esa zona y luego se calcula qué cantidad habría por mililitro. Esta técnica no se considera muy confiable debido a que no permite diferenciar el número de elementos vivos de los que no lo están.

También se pueden efectuar mediciones similares sobre material sólido.

Otra técnica, que tampoco es fiel, consiste en establecer la cantidad de células por turbidimetría. Lo más representativo es el **recuento de elementos viables**. Para ello hay que cultivar las células (véase cap. 31-4) y partir de la base de que cada bacteria es capaz de originar una **colonia**. Esto requiere un tiempo mínimo de 24 horas, para confirmar el número de elementos viables expresados como **unidades formadoras de colonias (UFC)**.

Hay métodos que permiten mantener las células en fase logarítmica. Estos métodos se utilizan sobre todo en la industria.

Los microorganismos no sólo necesitan nutrientes para crecer; su crecimiento también depende de la temperatura, el pH, la presión osmótica y las condiciones atmosféricas adecuadas. Además, influyen otros factores, como la humedad, la desecación y las radiaciones.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA

En cuanto a la **temperatura**, es posible distinguir una **temperatura mínima de crecimiento**, que es la temperatura más baja a la que la especie puede crecer, una **temperatura óptima de crecimiento**, que es aquella en la que el crecimiento es mejor, más rápido y abundante, y una **temperatura máxima de crecimiento**, que es la temperatura más alta que tolera ese microorganismo. De

acuerdo con la **temperatura óptima de crecimiento**, los microorganismos pueden agruparse como se describe a continuación.

Sicrófilos

Los microorganismos sicrófilos son los que requieren bajas temperaturas. En estos casos la temperatura óptima de crecimiento oscila entre los 15 y los 20 °C pero la mínima puede ser muy baja. Esto permite que también haya bacterias en el fondo de los océanos o en los polos.

Mesófilos

El desarrollo de estos microorganismos se produce entre los 25 y los 40 °C, con una temperatura óptima de 37 °C. Los agentes que infectan al ser humano y a otros animales pertenecen a esta categoría.

Termófilos

Los microorganismos toleran altas temperaturas. En estos casos la temperatura óptima de crecimiento se encuentra en los 55 °C, aunque la máxima puede ubicarse en los 80 °C.

Se ha introducido el término **extremófilas** para aquellas bacterias que toleran muy altas o muy bajas temperaturas, pero no son de interés médico.

CONDICIONES DE PH

El **pH** más adecuado para el desarrollo bacteriano es el **neutro** (entre 6,5 y 7,5). Sin embargo, hay bacterias que pueden crecer con un pH de hasta 4,0. Estas bacterias se denominan **acidófilas**. Los lactobacilos, que forman parte de la microbiota oral, suelen desarrollarse en este pH. Por el contrario, el agente del cólera requiere un medio alcalino.

PRESIÓN OSMÓTICA

Como ya se ha dicho, los microorganismos necesitan agua, pero la concentración de sales o azúcares en este líquido debe ser la adecuada para que no se produzca la **plasmólisis**. Pues en caso contrario las altas concentraciones de estas sustancias harán que la célula pierda el agua que la compone.

Las bacterias que toleran altas concentraciones salinas son **halófilas**.

CONDICIONES ATMOSFÉRICAS

Las **condiciones atmosféricas** para un microorganismo están dadas por el potencial de óxido-reducción.

Lo que se conoce como respiración bacteriana consiste en **reacciones de óxido-reducción**, que son reacciones en cadena en las que varía el **aceptor final de electrones o de hidrógeno**.

Si se considera este factor, los microorganismos pueden ser clasificados de la siguiente manera:

Aerobios

Los microorganismos aerobios son los que requieren oxígeno, porque éste es el aceptor final de hidrógeno, con el que forman agua y CO_2 .

Estos microorganismos se diferencian por producir una enzima **catalasa** que desdobra el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno naciente. La prueba de la catalasa se utiliza en el laboratorio para diferenciar a estos microorganismos de los otros (véase cap. 31).

Anaerobios

Los microorganismos anaerobios son los que viven en ausencia de oxígeno atmosférico. En este caso el aceptor final de hidrógeno es un **compuesto inorgánico** que puede reducirse, como los nitratos y los sulfatos.

Un tipo particular es la **fermentación**, en la que la **fuerza de carbono provee energía, el donador de hidrógeno y el aceptor final de éste**. Esto significa que el **aceptor final de hidrógeno es un compuesto orgánico**. Se obtienen como producto de desecho diversos ácidos o alcoholes. Este tipo de "respiración" es el que poseen muchos de los microorganismos orales.

Microaerófilos

Los microorganismos microaerófilos son aquellos que requieren bajas concentraciones de oxígeno para crecer.

Estos microorganismos, al igual que los aerobios, utilizan el oxígeno como fuente de energía, pero no toleran la concentración de oxígeno del aire atmosférico, sino que requieren niveles que no superen el 15% de este gas. Esto es consecuencia de su susceptibilidad a los radicales **superóxido** (molécula de oxígeno con un electrón). Estos radicales se generan en cultivos aerobios.

Hay microorganismos aerobios estrictos, otros facultativos e incluso algunos anaerobios que segregan una enzima, la **superóxido dismutasa**.

Esta enzima tiene la particularidad de contrarrestar los radicales superóxido, que son muy tóxicos, y de transformarlos en peróxido de hidrógeno. Éste es un tipo de **metabolismo alternativo y protector**.

La **prueba de la superóxido dismutasa** se utiliza para identificar ciertas bacterias.

Además de las categorías que se acaban de mencionar, existen categorías intermedias y es así que se habla de **anaerobios obligados**, que son microorganismos que jamás utilizan el oxígeno, y de **anaerobios moderados**, o sea, microorganismos que toleran de 2 a 8% de este gas. Algunos microorganismos se comportan como **anaerobios aerotolerantes**, porque sobreviven un tiempo en presencia de oxígeno. Los **anaerobios facultativos** aceptan indistintamente una situación u otra.

Hay un grupo de microorganismos que se desarrollan mejor cuando hay concentraciones elevadas de CO_2 en el medio, son los **capnófilos**.

En la cavidad bucal existen todas estas variantes y la última (capnófilos) se encuentra especialmente aumentada en las personas con alteraciones periodontales.

Muchos de los factores estimulantes del desarrollo bacteriano se usan en sentido opuesto en la vida cotidiana para preservar alimentos de la contaminación bacteriana; así, los alimentos se almacenan a bajas temperaturas, las conservas tienen un alto contenido de sales o azúcares, etcétera.

METABOLISMO

El metabolismo bacteriano es el **conjunto de reacciones o de transformaciones químicas** que tiene lugar en un microorganismo para mantener su **viabilidad**. Estas reacciones son de dos tipos: **procesos o reacciones catabólicas**, que son las que **degradan nutrientes (en general son reacciones hidrolíticas)** y al mismo tiempo **liberan energía**, y **procesos o reacciones anabólicas**, que son las que tienden a unir las moléculas, es decir, son **reacciones de biosíntesis** y requieren energía, la mayoría de las veces se trata de reacciones de deshidratación.

Las bacterias, como las células, llevan a cabo todos los procesos metabólicos gracias a las **enzimas**.

ENZIMAS

Las enzimas son **catalizadores orgánicos** que actúan por presencia y aceleran la reacción. Son específicas, dado que actúan sobre un **sustrato** y reciben el nombre del sustrato sobre el que actúan, al que se le agrega el sufijo **asa** (p. ej., lipasas si

actúan sobre los lípidos). Las enzimas que actúan en la respiración son deshidrogenasas y oxidasas. Se trata de proteínas grandes.

Algunas enzimas son sólo proteínas mientras que otras contienen otra **fracción no proteica, el cofactor**. La **parte proteica** es la **apoenzima** y ambas forman una **holoenzima** o enzima completa. La funcionalidad depende de ambos grupos. Si el cofactor es un ion metálico o una molécula orgánica compleja, se la designa **coenzima**. Si ésta se encuentra fuertemente unida a la apoenzima, se llama **grupo prostético**.

Las **enzimas** pueden ser **constitutivas**, si ya están preformadas en la célula, independientemente de que sean activas o no. Hay otras enzimas que son **inducibles o adaptativas** porque se forman en determinadas condiciones ambientales o en presencia del sustrato. Esto representa una gran ventaja para el microorganismo, que sólo gasta energía en producir lo que necesita.

Las **exoenzimas** del tipo hidrolítico introducen agua entre las uniones de las macromoléculas, a las que transforman en unidades más pequeñas denominadas **bloques estructurales**. Estos bloques pueden penetrar en forma pasiva, facilitada o activa a través de la pared y la membrana celular (**catabolismo**). Si lo hacen en forma activa, actúan en esta etapa las enzimas conocidas como **permeasas**.

En el interior de la célula otras enzimas llevan a cabo la **biosíntesis o unión de esos "bloques estructurales"** para volver a formar **macromoléculas (anabolismo)**. Estas enzimas están sujetas a un **mecanismo de represión para autolimitar su acción**.

En síntesis, las bacterias segregan distintos tipos de enzimas.

Las sustancias nutritivas deben encontrarse en solución, es decir, en un medio líquido.

Los microorganismos poseen ciertas **vías metabólicas** fundamentales para la producción de esos **bloques estructurales**.

Muchas veces los productos que se generan en la degradación de un elemento son intermediarios aprovechables en la construcción de otros elementos y estos procesos se denominan **vías anfibólicas** del metabolismo bacteriano. Un producto intermedio de suma importancia es el ácido pirúvico, que es un intermediario universal que permite obtener carbono tanto para energía como para formar hidratos de carbono, aminoácidos, lípidos y ácidos nucleicos.

Entre las vías metabólicas más conocidas se encuentran las vías glucolíticas, el ciclo de la pentosa fosfato y el ciclo del ácido tricarbóxico. Estos ciclos, que son iguales a los que tienen lugar en las células eucariotas, sirven para obtener ener-

gía (ATP). Los "bloques" para la formación de aminoácidos dan productos finales que ayudan a tipificar a los microorganismos.

Como consecuencia del metabolismo, puede haber secreción de toxinas, vitaminas, antibióticos u otras sustancias. Algunas propiedades metabólicas son aprovechadas desde hace mucho en la industria, como por ejemplo en la producción de vinos y otros productos.

Por otra parte, estas consecuencias del metabolismo son las que confieren infectividad a los microorganismos patógenos. Los que no lo son ayudan con sus productos o sus acciones a mantener el equilibrio de la biosfera.

MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo son sustancias nutritivas que permiten obtener en el laboratorio, es decir, *in vitro*, el desarrollo de los microorganismos. Cultivar un microorganismo en un medio consiste en brindar artificialmente las condiciones óptimas para su crecimiento. Los medios de cultivo deberían ser fáciles de preparar y relativamente baratos, y tendrían que permitir el desarrollo de una gran variedad de gérmenes.

Un medio de cultivo debe aportar los **nutrientes** adecuados para el microorganismo que desea cultivarse en él, y los medios por lo general contienen aminoácidos, nucleótidos, factores de crecimiento, glucosa y ciertos iones inorgánicos.

El **contenido de agua** del medio de cultivo, así como su pH, deben ser óptimos para el germen que se va a cultivar. Es necesario considerar los requerimientos de oxígeno y para ello, existen dispositivos especiales (véase cap. 31-4). El medio en el que se va a introducir el agente infeccioso en estudio debe estar estéril y habrá de mantenerse al abrigo de contaminaciones posteriores. Los medios se llevan a **incubar** o se colocan en estufas que brindan la temperatura óptima.

Clasificación

Los **medios de cultivo** pueden ser naturales o artificiales.

Los **naturales**, que actualmente sólo se utilizan para enriquecer ciertos medios de cultivo, fueron los medios más aptos en los albores de la microbiología (p. ej., leche, suero, papa, etcétera).

Los **artificiales**, como todos los medios que se preparan en el laboratorio, pueden ser clasificados según su estado en **líquidos**, como el caldo y **sólidos**, cuando al caldo se le agrega una sustancia capaz de solidificarse, como el **agar**.

El agar, que se obtiene de un alga y es un polisacárido complejo que resulta muy útil en esta especialidad, funde a 100 °C, pero se mantiene licuado aunque la temperatura se baje hasta 40 °C, nivel en el que se vuelve a solidificar. Esto se conoce como **fenómeno de sobrefusión del agar** y permite introducir o **sembrar** las bacterias sin que se dañen a causa de la temperatura. Puede agregarse menos cantidad de agar y así obtener un **medio semisólido**.

Hay medios de **composición química definida** en los que se sabe exactamente qué cantidad de cada nutriente se utiliza. Estos medios, que también se conocen como **medios sintéticos**, se utilizan para cultivar **microorganismos exigentes** que requieren muchos factores de crecimiento. La preparación de estos medios es muy laboriosa.

Casi todas las bacterias heterótrofas crecen mejor en **medios complejos** en los que es difícil conocer la cantidad exacta de cada compuesto químico. La preparación de estos medios es simple; se usa extracto de carne o de levadura o peptonas (proteínas digeridas). Según el agregado o no de otras sustancias se obtienen **medios comunes** (caldo, agar caldo o agar nutritivo) **enriquecidos** si se les agrega suero o sangre (agar sangre, agar suero) para microorganismos con más requerimientos nutritivos.

Los **medios mínimos** son los que con escasos nutrientes admiten el desarrollo de microorganismos.

Los **medios selectivos** son los que permiten el crecimiento de **un solo tipo de microorganismo** porque contienen sustancias que inhiben el crecimiento de otros.

Hay **medios diferenciales o indicadores** que

por un cambio de estado o de color permiten que se evidencie alguna actividad metabólica del microorganismo o permiten la identificación de ese microorganismo con respecto a otro.

Según el momento y la forma en que se utilicen los medios de cultivos, se puede decir que hay:

Medios de transporte. Como su nombre lo indica, estos medios sirven para trasladar el material obtenido de un paciente y brindan las condiciones adecuadas para **mantener la viabilidad** de la especie que se sospecha que causa la lesión. Se trata de medios de gran utilidad en microbiología general y oral, sobre todo si se desea **aislar gérmenes anaerobios**.

Medios de conservación. En estos medios los microorganismos pueden permanecer viables durante mucho tiempo porque resisten más la desecación que los medios de transporte.

Medios para aislamiento. Salvo que se trate de lesiones cerradas, en la mayoría de las lesiones suele haber varios tipos de microorganismos. Si se desea separar uno de otro, vale decir **aislar**, hay que recurrir a **medios sólidos** y, si fuera posible, selectivos. Las técnicas para llevar a cabo estas maniobras se describen en el capítulo 31-4.

Sembrar un microorganismo o un material patológico significa introducirlo en un medio de cultivo adecuado. El microorganismo que se coloca en ese medio de cultivo se denomina **inóculo**.

Para mantener los cultivos bacterianos es posible utilizar medios de conservación, recurrir a la desecación, mantenerlos a bajas temperaturas o proceder a su liofilización (desecación con alto vacío). Este último método es el que arroja mejores resultados.

Resumen

Las bacterias están constituidas por 80% de agua; el resto es peso seco y está integrado en gran parte por proteínas, además de ácidos nucleicos, lípidos, peptidoglucano y otros compuestos de bajo peso molecular.

La célula debe obtener del medio los elementos indispensables para asegurar su crecimiento. Esos elementos son los nutrientes, que pueden ser esenciales o básicos, como el C, el H, el O, el N o sus compuestos y el P.

Otros nutrientes necesarios son el K y el Mg.

Los oligoelementos son los nutrientes que el microorganismo requiere en pequeñas cantidades y los factores de crecimiento, en general, son vitaminas que la bacteria no puede sintetizar. Este proceso de nutrición se ve favorecido por **factores estimulantes**.

Según de dónde obtengan la energía para realizar la síntesis de las sustancias y qué fuentes de carbono sean capaces de asimilar, los microorganismos se clasifican en **fotoautótrofos** (utilizan la luz y el CO₂), **fotoheterótrofos** (necesitan la luz y carbono orgánico), **quimioautótrofos** (obtienen la energía a través de reacciones químicas pero absorben CO₂) y **quimioheterótrofos** (requieren reacciones químicas para obtener la energía y el carbono lo proveen los compuestos orgánicos). A este grupo pertenecen los patógenos humanos.

Lo que se denomina crecimiento bacteriano es un proceso de multiplicación celular. Este proceso tiene lugar por fisión binaria en un lapso que varía según cada microorganismo. Esto es el tiempo de generación. Si el crecimiento bacteriano se esquematiza en un gráfico de ordenadas y abscisas, se establece una curva en la que pueden individualizarse cuatro etapas: fase de latencia (sin crecimiento evidente), fase exponencial o de crecimiento logarítmico (la población bacteriana se multiplica en progresión geométrica), fase estacionaria (no hay modificación en el número de microorganismos) y fase de declinación o muerte (como su nombre lo indica, hay reducción de la población). Este conocimiento es útil para saber cuánto tiempo se necesitará para obtener cultivos y en qué etapas serán más efectivas las medidas terapéuticas.

Si se desea que los microorganismos permanezcan viables, debe trasplantárselos en la fase de crecimiento logarítmico, o bien, debe renovarse el medio o utilizar técnicas de conservación.

El número de células puede establecerse mediante el recuento de un volumen determinado con el auxilio del microscopio, o bien, por métodos de turbidimetría o por unidades formadoras de colonias (UFC). Esto, que es más seguro pero más lento, parte de la base de que en un medio de cultivo cada microorganismo origina una colonia.

Para crecer las bacterias requieren una temperatura adecuada. Según esa condición, se las divide en psicófilas (se desarrollan a bajas temperaturas con una temperatura óptima de 15-20 °C), mesófilas (tienen su temperatura óptima en los 37 °C) y termófilas (necesitan alrededor de 55 °C de temperatura). El pH más adecuado es el neutro (pH 6,5 a 7,5), aunque hay microorganismos acidófilos que pueden crecer con un pH de hasta 4,0 y otros, como *V. cholerae*, que se desarrollan en condiciones de alcalinidad. La concentración de sales u otros compuestos altera el metabolismo bacteriano, salvo en el caso de los microorganismos halófilos, que toleran bien una alta concentración de sales sin sufrir plasmólisis.

Lo que se conoce como respiración bacteriana consiste en reacciones de óxidoreducción en cadena o acopladas en las que varía la última sustancia que capta el hidrógeno. Según esto hay bacterias aerobias (el aceptor de hidrógeno es el O₂) y anaerobias (el oxígeno es tomado por un compuesto inorgánico); si el aceptor de hidrógeno es un compuesto orgánico, se produce una fermentación.

Los microorganismos microaerófilos necesitan oxígeno en bajas cantidades. Dentro de los anaerobios puede haber graduaciones, y hay anaerobios obligados, anaerobios moderados, anaerobios aerotolerantes y anaerobios facultativos.

Los microorganismos capnófilos son los que viven en concentraciones elevadas de CO₂.

Lo que se conoce como metabolismo bacteriano es el conjunto de reacciones de degradación (catabolismo) que suministran energía y las de síntesis de compuestos (anabolismo) que exigen energía para construir los elementos estructurales. Esto permite el crecimiento del microorganismo.

Todos estos procesos que aseguran la viabilidad celular están catalizados por enzimas. Estas enzimas pueden asociarse con coenzimas o cofactores, pueden actuar sobre diversos sustratos, pueden ser constitutivas o adaptativas y pueden actuar fuera de la célula (exoenzimas), en la membrana (permeasas) o en su interior.

El metabolismo permite identificar a los microorganismos de acuerdo con sus vías metabólicas y sus productos de excreción. El conocimiento de las condiciones requeridas por estos microorganismos ayuda a combatirlos por medio de antimetabolitos o por medio de condiciones disgenésicas.

El metabolismo de la glucosa y de los aminoácidos y los productos de fosforilación son importantes e iguales a los de las células eucarióticas.

Los medios de cultivo se preparan en el laboratorio para permitir el crecimiento de los microorganismos. Estos medios deben reunir ciertas condiciones, como aportar agua, nutrientes, pH adecuado, ser estériles y poder ser colocados en las condiciones atmosféricas indicadas y a una temperatura óptima para que el germen que va a estudiarse pueda desarrollarse.

Los medios pueden ser clasificados según su origen en naturales y artificiales; estos últimos pueden ser sintéticos y complejos. Según su estado los medios pueden ser líquidos, sólidos y semisólidos.

Según el agregado o no de sustancias los medios pueden ser comunes, enriquecidos o mínimos. Por su finalidad se distinguen los medios de transporte, de aislamiento, de conservación y los diferenciales.

Los medios sintéticos y enriquecidos son aptos para el cultivo de microorganismos exigentes.

La siembra consiste en introducir un microorganismo o una muestra patológica (inóculos) en medios apropiados para su desarrollo. El trasplante consiste en pasar un microorganismo de un medio de cultivo a otro para mantenerlo viable o para aislarlo.

Preguntas de revisión

1. ¿Cuál es la composición química de una bacteria?
2. ¿Cómo definiría un nutriente?
3. ¿Qué tipos de nutrientes necesitan los microorganismos?
4. ¿Qué categorías nutritivas puede mencionar?
5. ¿Cómo se esquematiza la curva de crecimiento bacteriano y a qué se debe cada una de las etapas?
6. ¿Qué técnicas se utilizan para medir el crecimiento bacteriano?
7. De acuerdo con la temperatura óptima de desarrollo, ¿cómo se clasifican las bacterias?
8. ¿Qué influencia tiene la presión osmótica sobre las células?
9. ¿Cómo se clasifican los microorganismos según las condiciones atmosféricas que necesitan?
10. ¿Cómo definiría el metabolismo?
11. ¿Qué es una enzima, cómo está constituida y qué tipos de enzima conoce?
12. ¿Cuál es el producto intermedio universal como proveedor de energía y diversos compuestos?
13. ¿Qué es un medio de cultivo?
14. ¿Qué condiciones tiene que reunir un medio de cultivo?
15. ¿Qué tipos de medios de cultivo conoce?
16. Explique los conceptos de siembra e inóculo.

Problema 6-1

Se obtiene una muestra de un enfermo con lesiones periodontales para su diagnóstico.

Preguntas:

1. ¿Dónde colocaría la muestra que obtiene y por qué?
2. ¿Cómo podría aislar las bacterias causantes?

BIBLIOGRAFÍA

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 4: Metabolismo y crecimiento de las bacterias. En: Microbiología médica. 5ª ed. Madrid: Harcourt Brace-Elsevier, 2006, pp. 25-33.

Negróni M. Capítulo 6: Crecimiento, nutrición y metabolismo bacteriano. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001, pp. 33-42.

GENÉTICA BACTERIANA

Celia M. Alpuche Aranda y Luis Romano Massotti

Contenidos

Elementos genéticos esenciales. Características del genoma bacteriano y elementos extracromosómicos, replicación y expresión de material genético. Modificación e intercambio genético. Transformación. Conjugación. Transducción. Impacto en virulencia y adaptación.

Objetivos

- Identificar el concepto de material genético como determinante de las estructuras y funciones de las bacterias.
- Describir las características del genoma bacteriano.
- Describir cuáles son los elementos genéticos extracromosómicos de las bacterianas.
- Reconocer y enunciar ejemplos de genes y su impacto en virulencia bacteriana.

INTRODUCCIÓN

Lo que es y será un organismo viviente está determinado por el material genético que lo compone y su interacción con el medio ambiente que selecciona, activa, reprime o cambia a este material genético.

En el caso de las bacterias existe una gran cantidad de información generada en los últimos 50 años sobre **genética bacteriana** que permite entender mejor las funciones esenciales de este material genético y cómo sus características rigen el comportamiento de una bacteria como comensal, su capacidad de adaptación al medio ambiente en su búsqueda de nutrientes o aun más cómo esto le permite expresar mecanismos de virulencia que le confieren la capacidad de colonizar, invadir, diseminarse y dañar células eucarióticas y, como resultado, producir un gran espectro de enfermedades clínicas, a veces sólo conviviendo sin más problemas o hasta el extremo de producir desenlaces fatales.

El descubrimiento de la molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) en 1944 por Avery, MacLeod and McCarty es, quizá, el inicio del entendimiento de cómo la genética marca lo que es un ser vivo y esto se entiende aún mejor cuando se incrementa el conocimiento sobre la estructura de la doble hélice del DNA descrita por Watson y

Crick en 1953, y posteriormente con la contribución de grandes investigadores para comprender la interpretación del código genético. A partir de entonces hay un inmenso desarrollo técnico que permite unir diferentes investigaciones hasta llegar a la comprensión de que la secuencia de nucleótidos nos dará el orden de aminoácidos para conformar una proteína, que a su vez será una proteína estructural o con alguna función y la interacción de éstas al final resultará en el todo de un ser vivo tan sencillo como los unicelulares o los más complejos como los mamíferos. Precisamente la esencia unicelular de las bacterias las ha convertido en un excelente modelo de estudio de genética, para entender cómo se regulan sus genes para que éstos se expresen y den al final la capacidad de producir moléculas que rigen la vida.

ELEMENTOS GENÉTICOS ESENCIALES

El material genético de las bacterias se encuentra en forma de ácido desoxirribonucleico (DNA) y posteriormente tenemos los elementos conocidos como ácidos ribonucleicos (RNA) en sus diferentes tipos: de transferencia, ribosomal.

El DNA bacteriano es una molécula compuesta por unidades repetitivas de nucleótidos. Cada

nucleótido está formado por una base nitrogenada (adenina, timina, citosina o guanina) con deoxirribosa (azúcar pentosa) y un grupo fosfato. Los nucleótidos están unidos en pares a lo largo de cadenas enrolladas en forma de doble hélice y unidos a proteínas. Este DNA conforma el genoma bacteriano, aunque también puede encontrarse en elementos extracromosómicos, como los plásmidos, transposones e integrones. Las dos funciones esenciales del material genético son replicación y expresión.

La replicación de la información genética debe ser eficiente para que la progenie herede determinantes genéticos específicos (genotipo) de la célula madre.

La expresión de esta información establecerá las características observables (fenotipo) del microorganismo. Ya que no es fácil distinguir los detalles morfológicos de las bacterias, otras características fenotípicas como su capacidad de crecimiento en ciertos medios, la utilización de nutrientes y el patrón de susceptibilidad antimicrobiano nos permiten estudiar, de forma indirecta, las características genéticas de las bacterias.

CARACTERÍSTICAS DEL GENOMA BACTERIANO Y ELEMENTOS EXTRACROMOSÓMICOS, REPLICACIÓN Y EXPRESIÓN DE MATERIAL GENÉTICO

El genoma bacteriano varía de tamaño entre $0,4 \times 10^9$ y $8,6 \times 10^9$ daltons (Da). La mayoría de las bacterias tienen un solo cromosoma circular con DNA de doble cadena. Con 5.000.000 de pares de bases (bp) o 5.000 pares de kilobases (kb).

Aunque en algunas bacterias, como *Borrelia* o *Streptomyces*, se han encontrado DNA lineares o, en el caso de *Agrobacterium*, DNA circular y DNA linear. A pesar de que el cromosoma de *E. coli* tiene una longitud de 1,35 mm, cientos de veces más largo que el diámetro de toda la célula, esta molécula puede acomodarse en el citoplasma a través de arreglos como el superenrollamiento y organización en nucleótidos.

Los micoplasmas son los que tienen un cromosoma pequeño, casi la cuarta parte del de otras bacterias.

En el genoma hay innumerables **operones**, que están constituidos por uno o más genes estructurales.

Las bacterias son haploides, pues poseen una sola copia de sus cromosomas, mientras que los eucariotas son diploides, porque presentan dos copias de cada cromosoma.

La información genética codificada en el DNA se expresa a través de la síntesis de RNA y proteínas específicas:

DNA → RNA → Proteínas

La síntesis de RNA a partir de información del DNA se conoce como **transcripción**. En este proceso, una hebra de DNA sirve como template para la síntesis de una molécula de RNA. Los RNA mensajeros (RNAm), a su vez, transportan la información necesaria para la síntesis de proteínas. Este mecanismo es llamado **traducción**.

El principio del **código genético** es la **secuencia de nucleótidos** distribuidos en **codones** a partir de regiones conocidas como **iniciadoras del gen** hasta llegar al **codón de terminación** que indica el fin del código, es decir, de la proteína que se va a producir.

Para que se inicie la transcripción de un gen existe una región, algunos pares de bases antes del codón de inicio, la cual se llama **región promotora**, sitio al que se une la RNA polimerasa, la cual inicia el proceso de transcripción. Cada uno de estos codones determina el aminoácido y la secuencia que éstos tienen en una proteína y éstas a su vez son estructurales o enzimas que terminan siendo la esencia del desarrollo de vida de los organismos vivientes. En la gran mayoría de los casos la expresión de estos genes llevará a cabo la producción de nuevas proteínas, es un mecanismo regulado a través de una serie de genes.

Estos genes pueden estar organizados de varias maneras, como los **operones (grupos de uno o más genes estructurales)**, en los cuales se han descrito de manera bien definida **proteínas represoras**, las **inductoras** y los **productos finales**; de esta forma, existe un sistema que permite iniciar la transcripción cuando hay algo en el ambiente que "avisa". Esto también se ejemplifica a través de **sistemas reguladores** de dos o más componentes donde se identifica claramente un gen que codifica para una **proteína sensora** que generalmente es transmembranal y detecta cambios, como disminuciones de pH, osmolaridad, concentraciones de cationes, concentraciones de oxígeno y de nutrientes, entre otros.

Esto se produce a través de un sistema que, por lo regular, son **fosforilaciones** que envían **señales a los genes reguladores**, los cuales son los que tienen las regiones que permiten pegarse a las zonas promotoras de los genes que tendrán que activar o reprimir y, de esta manera, tener impacto positivo o negativo para iniciar la transcripción de éstos, que a su vez llevará a la producción de una proteí-

na que tendrá un efecto en contrarrestar el ambiente adverso que detectó la proteína sensora.

Una característica de **agrupación de genes de virulencia** en el genoma bacteriano se conoce como **islas de patogenicidad**, las cuales pueden definirse como regiones del cromosoma de una bacteria con un conglomerado de genes implicados en la virulencia de la bacteria (véase cap. 17) con alto contenido de G-C, diferentes al resto del cromosoma de la bacteria y que están flanqueados por **secuencias de inserción**.

Los **plásmidos** son **unidades de información genética extra cromosómicas** que generalmente codifican información no esencial para la viabilidad de la bacteria y que se replican de forma independiente del cromosoma. Los plásmidos se encuentran en forma de **DNA de doble cadena, circular y superenrollado**. Los plásmidos **conjugativos** codifican para mecanismos relacionados con la transferencia de estos plásmidos entre diferentes bacterias. Los plásmidos se caracterizan por que pueden replicarse, regular su replicación, acarrear genes de metabolismo, virulencia, resistencia a antibióticos, entre otros, pueden definir compatibilidad con otros plásmidos y algunos pueden **integrarse en el cromosoma de bacterias (episoma)**.

Muchas **características de importancia médica son mediadas por plásmidos**, entre ellas están la **resistencia a uno o varios antibióticos**, la **producción de toxinas**, la **síntesis de estructuras de membrana necesarias para adherencia o colonización**, entre otras muchas.

Los plásmidos que **determinan resistencia antibiótica** se han denominado "**plásmidos R**". Las enterotoxinas de *E. coli* o la toxina tetánica de *C. tetani* son ejemplos de toxinas mediadas por plásmidos.

Otros elementos que pueden invadir bacterias y llevar **material genético extracromosómico** son los **bacteriófagos (virus bacterianos o fagos)**, los cuales son agentes infecciosos que se replican como parásitos intracelulares obligados dentro de las bacterias. Son **metabólicamente inertes** y consisten de proteínas y ácidos nucleicos (RNA o DNA). El **genoma del fago**, al igual que los plásmidos, **codifican para funciones necesarias para su replicación intracelular, pero también codifican para la síntesis de las proteínas necesarias para el ensamblaje del fago**.

Los fagos se clasifican en dos grupos: **virulento** y **templado**. Los fagos virulentos destruyen la célula huésped, mientras que los fagos templados pueden producir: a) **crecimiento lítico**, donde al igual que con los fagos virulentos hay replicación intracelular y muerte celular; b) **lisogenia**, una infección viral latente donde el fago se replica en

forma de profago y la bacteria infectada no muere. El genoma del fago puede codificar para características bacterianas no relacionadas a su replicación; este fenómeno conocido como **conversión** es responsable de algunas características de virulencia bacteriana como la producción de la toxina por *Corynebacterium diphtheriae*, la toxina eritrogénica de *Streptococcus pyogenes*, la toxina botulínica de *C. botulinum* y las toxinas tipo Shiga de *E. coli*.

Otro elemento de material genético extracromosomal que puede introducirse en bacterias son los **transposones**, los cuales son **secuencias de DNA** que tiene como característica llevar información para una **transposasa** y en los extremos secuencias repetidas conocidas como de **inserción (IS)**; y en medio de esta secuencia puede encontrarse la **inserción de genes de virulencia**, como toxinas o genes de resistencia a antibióticos; éstos pueden integrarse en el cromosoma de las bacterias o insertarse en fagos.

Los **integrones** son **elementos de DNA móviles** que pueden capturar genes de resistencia o virulencia, los cuales están en "casetes" y, como acarrear una integrasa, pueden introducirse en el cromosoma, los transposones y los plásmidos de bacterias; de esta manera, pueden replicarse y expresar la información que llevan.

MODIFICACIÓN E INTERCAMBIO GENÉTICO

El material genético puede modificarse por efecto de mutaciones, las cuales pueden ser puntuales y suficientes para mediar una alteración en la proteína producida, que lleve a un efecto de resistencia. Las mutaciones son cambios transmisibles en el genoma bacteriano y la tasa de mutaciones en las bacterias está determinada por la exactitud de la replicación del DNA, los daños al DNA y la eficacia de los mecanismos de reparación del DNA dañado. Factores ambientales, como rayos X o luz ultravioleta, o algunos químicos pueden incrementar la tasa de mutaciones de bacterias.

Las mutaciones pueden estar limitadas a segmentos cortos de DNA como en microdeleciones, sustituciones de nucleótidos y microinserciones, o afectar regiones más grandes mediante rearrreglos de DNA, inserciones y deleciones.

Cuando ocurre una sustitución de un nucleótido en el DNA, uno de los tres nucleótidos que componen el codón del RNAm correspondiente también cambia y esto puede ocasionar la traducción de un aminoácido por otro. Los efectos de estas alteraciones varían desde una discreta disminución en la actividad biológica hasta la inactividad del gen involucrado.

En enterobacterias como *E. coli* o *Salmonella* puede reproducirse *in vitro* la obtención de mutantes con resistencia espontánea a estreptomycin en una frecuencia de 10^{-9} por generación bacteriana, lo que hace poco probable el desarrollo de resistencia por este mecanismo durante tratamientos. De hecho este fenómeno es poco común en la presentación clínica, ya que son necesarios varios eventos de mutación para producir un cambio suficiente en la proteína al grado de mediar resistencia.

La otra posibilidad de adquirir resistencia bacteriana es a través de reclutamiento de nuevo material genético que codifique para proteínas mediadoras y esto ya involucra un proceso de movimiento de material genético entre bacterias. La transmisión vertical ocurre cuando una bacteria, la cual ya es resistente a algún antimicrobiano, transmite la información genética, que transfiere esta resistencia, a las nuevas generaciones a través de la división celular. Por otra parte, la transmisión horizontal involucra el movimiento de material genético entre bacterias que no necesariamente son de la misma especie. Los mecanismos que permiten intercambio horizontal de material genético son: transformación, conjugación y transducción.

Transformación

La primera demostración de intercambio genético en bacterias fue en 1928 por Fred Griffith al estudiar las variantes lisas de *Streptococcus pneumoniae* (virulenta) vs. variantes rugosas avirulentas. Sólo las bacterias lisas vivas producían enfer-

medad en ratones; si se mataban las lisas y se inyectaban al ratón, no eran virulentas. Griffith mezcló bacterias "lisas" muertas con rugosas vivas y las inyectó al ratón, que se murió. Posteriormente se demostró que las bacterias rugosas avirulentas son capaces de captar DNA libre de las bacterias lisas y, de esta forma, se transformaban en lisas virulentas "Principio de Transformación".

En la transformación se transmite material genético de una bacteria a otra a través de DNA libre en el medio, mecanismo que no amerita sitios de integración de elementos episomales, pero en el cual es importante la oportunidad de que el DNA exógeno se encuentre en buenas condiciones en el ambiente cercano a la bacteria receptora para tener la oportunidad de introducirlo (fig. 7-1). Para que la transformación ocurra, la bacteria receptora debe presentar mecanismos para captar DNA a través de sus envolturas externas y para incorporarlo en su cromosoma.

La transformación puede dar lugar a recombinación intragénica de genes cromosomales que resulte en genes mosaico que codifiquen para proteínas mediadoras de resistencia antimicrobiana. Esto se ha documentado en la resistencia moderada a penicilina de *Neisseria meningitidis*, la resistencia cromosómica a penicilina de *Neisseria gonorrhoeae* y en las cepas de *Staphylococcus aureus* con altos niveles de resistencia a β -lactámicos. En estos casos el gen mosaico codificará una resistencia mediada por proteínas enlazadoras de penicilina, conocidas como PBPs (por las siglas en inglés de *penicillin-binding-protein*), con baja afinidad para β -lactámicos (véase cap. 12).

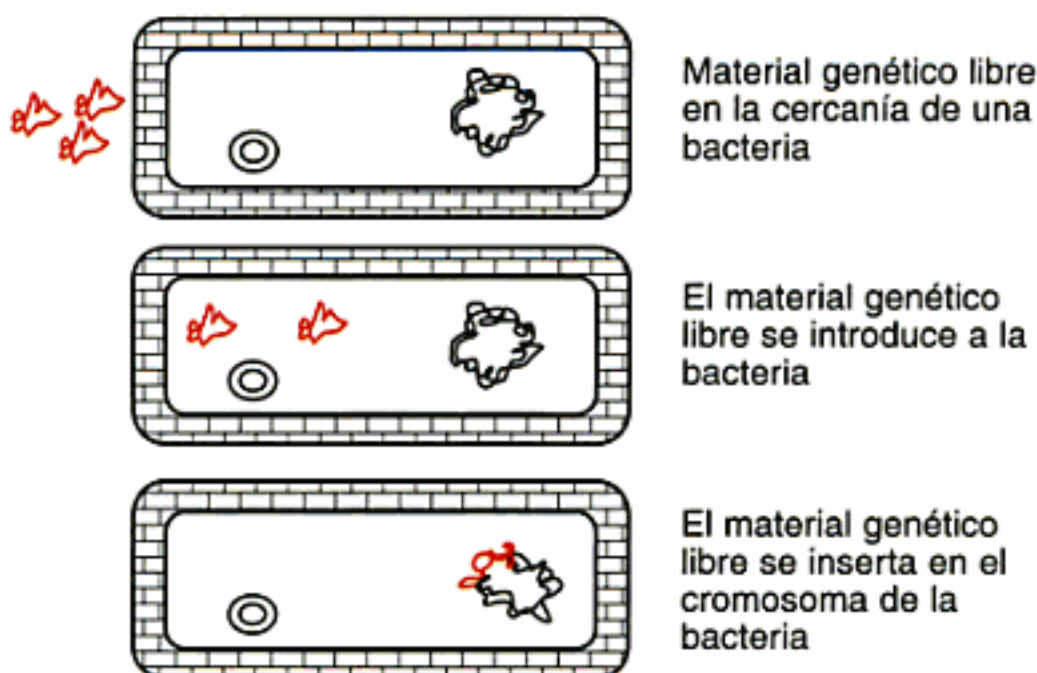


Fig. 7-1. Transformación.

Conjugación

La conjugación ocurre entre bacterias que inducen contacto entre ellas para intercambiar material genético (fig. 7-2). Este tipo de intercambio genético permite la transferencia de plásmidos y otros elementos genéticos de una célula a otra.

Los plásmidos, por lo general, son elementos genéticos circulares de doble cadena de DNA, aunque también existen en forma lineal, la cual contiene genes completos que pueden codificar para

proteínas totalmente funcionales. El tamaño de los plásmidos y la capacidad de producir múltiples copias de éste es variable y genes mediadores de resistencia bacteriana pueden ser acarreados en ellos. La mayor parte de plásmidos en la naturaleza son capaces de inducir su autotransferencia o ser móviles.

Durante la conjugación las bacterias donadoras poseen una estructura, conocida como "pili" en gramnegativos, la cual hace contacto con la célula

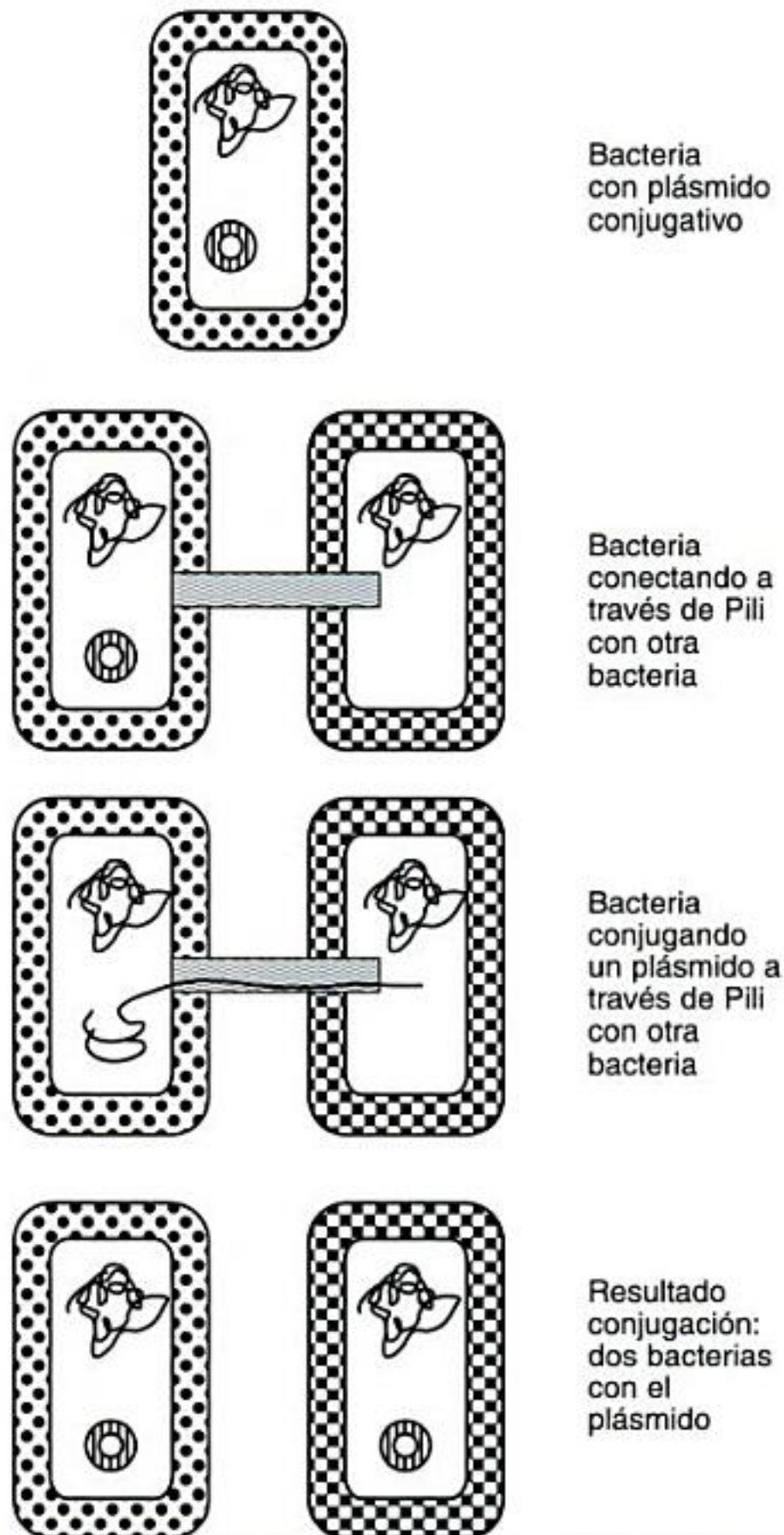


Fig. 7-2. Conjugación.

receptora; además la doble cadena de DNA del plásmido se abre y una cadena permanece en la célula donadora y la otra pasa a la célula receptora, es decir, esta cadena de DNA sirve como template para la replicación en ambas células (fig. 7-2). De esta forma, la información genética acarreada en el plásmido queda tanto en la célula receptora como en la donadora.

Muchos plásmidos han transferido sistemas genéticos entre especies no relacionadas y se les ha llamado plásmidos promiscuos, como el RP4 y el R388, los cuales son grandes y conocidos como plásmidos R, que fueron aislados en hospitales y reciben este nombre porque contienen genes para resistencia antimicrobiana. En un principio se pensó que la conjugación era un fenómeno muy limitado que requería alta especificidad para la interacción entre donador y receptor; actualmente se ha demostrado que aún bacterias en estado moribundo pueden donar material genético por este mecanismo.

Los plásmidos pueden adquirir múltiples genes de resistencia por elementos conjugativos, como transposones e integrones; ambos **elementos son segmentos de DNA lineal que acarrean secuencias genéticas** entre las cuales puede haber genes para resistencias bacterianas y secuencias que les confieren la capacidad de insertarse al azar en el DNA cromosómico o plasmídico. De esta forma, los transposones conjugativos pueden introducir varias de estas secuencias y producir un plásmido R que acarrea material genético de resistencia a uno o múltiples antibióticos.

Un ejemplo de transmisión por plásmidos es la resistencia de gramnegativos a diferentes β -lactámicos, mediada por enzimas β -lactamasas del tipo TEM o SHV, o el caso de *Staphylococcus* a la trimetoprima.

Transducción

La transducción, por otra parte, involucra **transferencia de información genética de una célula a otra a través de una partícula viral**. Estos virus que infectan bacterias son llamados **bacteriófagos o fagos**, como ya se dijo, tienen la capacidad de **penetrar las membranas y la pared celular de la bacteria para inyectarle su material genético**, el cual puede ser de DNA o RNA dependiendo del tipo de fago.

El material genético contenido en el fago acarrea información para dirigir la replicación de éste a través de la célula infectada. Durante la replicación, al momento de empacar su DNA, **el fago puede llevarse en el proceso material genético de la bacteria huésped, tanto cromosómico**

como plasmídico. Estos fagos que adquirieron material genético de la bacteria infectada pueden **salir por lisis de la bacteria e infectar otra bacteria** (ver cap. 8), donde pueden transmitirle e integrarle el DNA que llevan si se encuentran alguna secuencia para realizar recombinación homóloga. Si el fago ha empacado un plásmido completo, éste puede replicarse una vez en el interior de la bacteria y tomar su forma circular de nuevo; lo mismo ocurre si contiene un transposón, el cual puede separarse del fago e insertarse en el cromosoma o un plásmido.

IMPACTO EN VIRULENCIA Y ADAPTACIÓN

La característica de las bacterias de tener mayor plasticidad para modificar su material genético tanto por cambios reales o su expresión ante circunstancias adversa le permite adaptarse al medio ambiente hostil. Asimismo, las características antes descritas de intercambiar material genético con otras bacterias o adquirirlo de forma libre del ambiente son otro factor que permite la posibilidad de expresar su adaptación o capacidad de virulencia ante circunstancias especiales.

Hay bacterias cuya capacidad de producir enfermedad está siempre presente y éstas pueden llamarse "patógenos principales", como es el ejemplo de *Shigella spp*; otros microorganismos por lo regular no producirán enfermedad a menos que el sistema inmune del individuo se encuentre deteriorado; éstos se llaman "oportunistas" y la gran mayoría no producirán enfermedad, sólo viven como "comensales". Para producir enfermedad las bacterias tienen que tener mecanismos de virulencia, como la capacidad de colonizar, adherirse, invadir, producir sustancias tóxicas a las células eucarióticas, persistir o multiplicarse en tejidos o células y quizá la más importante de todas es que ciertos productos que contienen estas bacterias son capaces de despertar una respuesta en el organismo infectado, entre éstos los humanos, de tal manera que se traduce en manifestaciones de inflamación, como fiebre, material purulento, inflamación, necrosis, daño directo a órganos blancos o manifestaciones generalizadas de sepsis.

La información genética que una bacteriana tiene será la que determine si los genes para desarrollar estas capacidades están presentes o no, o si son capaces de expresarse.

Un ejemplo clásico es que existen cepas de *Vibrio cholerae* 01 o Inaba toxigénicas y no toxigénicas; esto está determinado por la presencia de los genes y la expresión de éstos para producir toxina colérica.

Otro ejemplo es la característica que tienen algunas especies bacterianas de adherirse a superficies inertes, aglutinarse en microcolonias y recurrirse de una matriz de exopolisacárido formando la barrera conocida como "biopelícula"; una situación que hace difícil erradicar bacterias que se adhieren a materiales como catéteres intravenosos, prótesis y que son muy importantes en la formación del biofilm dentobacteriano (véase cap. 19).

Teniendo en cuenta la posibilidad natural de varias formas de transmisión de material genético, incluyendo el que codifica para resistencia bacteriana, ha podido entenderse mejor cómo el uso de antibióticos puede ejercer una presión de selección para inducir la aparición de cepas resistentes a uno o múltiples antibióticos. De esta forma, el conjunto de genes de resistencia en la naturaleza, en general, representa una fuente potencial de codificación para ellas.

En algunos sitios como hospitales y granjas donde el uso de antibióticos es mayor, se induce a que las bacterias patógenas o comensales, presentes en el ambiente, que acarrean algún mecanismo de resistencias, en presencia de los antibióticos usados, se seleccionen, ya que las susceptibles morirán y las resistentes sobrevivirán. De esta forma, genes de resistencia aislados en bacterias diferentes tendrán la oportunidad de acumularse en ese ambiente y de alguna forma transferirse de un microorganismo a otro, e inclusive integrarse en elementos de transferencia como los integrones o transposones. Es factible que inserten esta información en el cromosoma de la bacteria y formen verdaderos casetes de multiresistencia dentro de estos elementos de transferencia. Insertan la información en otros elementos genéticos con capacidad de replicación, como los plásmidos conjugativos R, lo que hará más fácil la diseminación de la

multiresistencia entre bacterias de la misma o diferente especie. Se ha demostrado también que la transferencia de resistencia a tetraciclina en *Bacteroides* por transposones conjugativos se incrementa hasta cien veces si se preincuban las bacterias con bajas dosis de tetraciclina. Varios antibióticos han demostrado que favorecen la transferencia de plásmidos entre diferentes bacterias. Es posible que bajas dosis de antibióticos favorezcan el contacto célula-célula o que estén alterando las cubiertas externas de la bacteria y, de esta forma, favorezca la adquisición de diferentes elementos genéticos. Todo lo anterior claramente ejemplifica el porqué un antibiótico sólo debe ser usado cuando verdaderamente se justifique.

Por otra parte, el uso industrial de antibióticos en granjas puede seleccionar resistencia o multiresistencia y de éstos puede pasar la información a bacterias capaces de producir infecciones graves en los humanos.

Asimismo, el avance en el conocimiento de genética bacteriana ha proporcionado herramientas muy importantes en el desarrollo tecnológico para diagnóstico de enfermedades infecciosas y avances en el conocimiento de patogenia de enfermedades infecciosas y no infecciosas, como el caso del desarrollo de técnicas de biología molecular como PCR, convencional y tiempo real, hibridación, secuenciaciones y genotipificación entre otros (véase cap. 28).

En conclusión, el material genético que contiene una bacteria, cómo puede expresarlo y su capacidad de adquirir más información genética y expresarla ante el ambiente en que se encuentra son lo que determina la clase de interacción que tendrá con su hospedero y si esto se traducirá en manifestaciones de enfermedad.

Resumen

La estructura y las funciones que dan las características particulares de cualquier ser vivo, en este caso procariontes como las bacterias, están determinadas por el material genético que heredan de su progenitora, la capacidad que tienen de expresar este material genético ante el medio ambiente en que viven, así como la capacidad que tiene de intercambiar material genético con otras bacterias, el cual puede estar libre, en plásmidos transposones o integrones, incorporarlo como elemento genético cromosómico o extracromosómico y expresarlo como parte de sus funciones normales.

El principio del código genético es la secuencia de nucleótidos distribuidos en codones a partir de regiones conocidas como iniciadoras del gen hasta llegar al codón de terminación que indica el fin del código. Cada uno de estos codones determina el aminoácido y la secuencia que éstos tienen en una proteína y éstas a su vez o son estructurales o enzimas que terminan siendo la esencia del desarrollo de vida de los organismos vivientes.

El material genético en las bacterias puede ser cromosómico (genoma de la bacteria), el cual varía en tamaño dependiendo del género y especie, y los elementos extracromosómicos, como plásmidos, transposones e integrones. Estos elementos extracromosómicos al igual que los bacteriófagos son elementos que le permiten a las bacterias intercambio horizontal de material genético que se ha demostrado que tiene gran impacto en la capacidad de las bacterias de adquirir factores de virulencia, resistencia a antibióticos y adaptación metabólica a condiciones adversas del ambiente en que viven.

Asimismo, el avance en el conocimiento de genética bacteriana ha proporcionado herramientas muy importantes en el desarrollo tecnológico para diagnóstico de enfermedades infecciosas y adelantos en el conocimiento de patogenia de enfermedades infecciosas y no infecciosas, como el caso del desarrollo de PCR convencional y tiempo real, hibridación, secuenciaciones y genotipificación, entre otros. Se han utilizado estos conocimientos en ingeniería genética, con distintos fines.

Las características del material genético de las bacterias y la plasticidad para modificarlo o intercambiarlo de manera horizontal, así como los múltiples mecanismos de regulación de su expresión ante diferentes condiciones ambientales, hacen que estos microorganismos puedan adaptarse, vivir como comensales, ser microorganismos oportunistas o francamente patógenos.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué dos funciones esenciales cumple el material genético?
2. ¿Entre qué medidas varía el genoma bacteriano?
3. ¿A qué proceso se denomina transcripción?
4. ¿Qué es la traducción?
5. ¿A qué se llama código genético?
6. ¿Qué son las "islas de patogenicidad"?
7. ¿Cómo definiría un plásmido?
8. ¿Qué son los fagos y qué tipos puede mencionar?
9. Describa transposones e integrones.
10. ¿Cuándo se considera que hay una mutación?
11. ¿Cuándo se produce la transmisión vertical y horizontal de resistencia bacteriana?
12. Describa los procesos de transformación, conjugación y transducción; establezca las diferencias entre ellos.

BIBLIOGRAFÍA

- Amyes SG. Genes and spectrum: the theoretical limits. *Clin Infect Dis* 1998;27 Suppl 1:S21-8.
- Baquero F, Negri MC, Morosini MI, Blazquez J. Antibiotic-selective environments. *Clin Infect Dis* 1998;27 Suppl 1:S5-11.
- Brock TD. Transformation. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1990.
- Brock TD. Transduction. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1990.
- Davies J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science* 1994;264(5157):375-82.
- Hughes VM, Datta N. Conjugative plasmids in bacteria of the "pre-antibiotic" era. *Nature* 1983;302(5910):725-6.
- Maiden MC. Horizontal genetic exchange, evolution, and spread of antibiotic resistance in bacteria. *Clin Infect Dis* 1998;27 Suppl 1:S12-20.
- Mazodier P, Davies J. Gene transfer between distantly related bacteria. *Annu Rev Genet* 1991;25:147-71.
- Murray PR, Ken SR, Pfaller MA. Capítulo 5: Genética bacteriana. En: *Microbiología médica*. 5ª ed. Madrid: Elsevier Mosby, 2006; pp. 35-46.
- Relman DA, Falkow S. Microbial virulence factors in principles and practice of infectious diseases, editate by G. Mandell, J Bennett, Dolin R. Elsevier Churchill Livingstong, 6th edition, 2005; pp. 3-14.
- Sallyers AA, Whitt DD. Antibiotics: mechanisms of actions and mechanisms of bacterial resistance. Washington DC: ASM Press; 1994.
- Snyder L, Champness W. A brief history of bacterial molecular genetics. Washington DC: ASM Press; 1997.
- Snyder L, Champness W. Mutations in bacteria. Washington DC: ASP Press; 1997.
- Spratt BG. Resitance to antibiotics mediated by target alterations. *Science* 1994;264(5157):388-93.
- Spratt BG, Dowson CG, Zhang Q-Y, Bowler LD, Brannigan JA, Hutchison A. Mosaic genes, hybrid penicillin-binding proteins, and the origins of penicillin-resitance in *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae*. New York: Wiley-Liss Inc; 1991.
- Snyder L, Champness W. Pasmids and Conjution. Washington DC: ASM Press; 1997.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Chapter 8: Microbial genetics. In: *Microbiology. An introduction*. 8th ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2004; pp. 211-247.

SECCIÓN 2

Virología

VIRUS: GENERALIDADES

Marta Negroni

Contenido

Definición. Características generales. Tamaño. Composición química. Estructura. Simetría. Sensibilidad. Replicación viral. Clasificación. Cultivos virales. Acción citopatogénica. Interferencia viral. Vías de transmisión de las virosis. Mecanismos de transformación celular. Virión. Viroide. Provirus. Seudovirión. Prión. Bacteriófago.

Objetivos

- Definir el concepto de virus.
- Describir las estructuras de los viriones y las funciones que cumple cada una.
- Citar la composición química de los viriones.
- Enumerar los pasos de la replicación viral.
- Describir las características que se tienen en cuenta para clasificar los virus.
- Mencionar métodos de cultivo para virus.
- Establecer las diferencias entre virión, viroide, pseudoviroide, provirus y prion.
- Definir el efecto citopático y mencionar ejemplos.
- Conocer las vías de transmisión viral.

DEFINICIÓN

Virus significa veneno.

Los virus son partículas infecciosas muy pequeñas (de entre 20 y 300 nm o más), que están constituidas por uno solo de los dos ácidos nucleicos, DNA o RNA, poseen distintos tipos de simetría y necesitan una célula viva para replicarse por un mecanismo particular.

Son parásitos genéticos intracelulares u obligados de las plantas y los animales, incluido el hombre, y también parasitan bacterias y parásitos.

CARACTERÍSTICAS GENERALES

Los virus son partículas carentes de organelas y de metabolismo propio.

Las enfermedades que los virus originan en el hombre (**virosis**) se conocen desde hace muchos años. Sin embargo, la demostración de los virus por medio del microscopio electrónico, de la técnica conocida como cristalografía de rayos X y las técnicas para cultivarlos en el laboratorio se han producido en el siglo XX.

Tamaño

Como ya se ha dicho, los virus más pequeños pueden medir sólo 20 nm (10^{-9} metro, o sea, la milésima parte de un micrón). Los virus más grandes alcanzan los 300 nm y hay descripciones de algunos de 1000 nm. Dentro de los virus de menor tamaño puede citarse el que produce la poliomielitis y, como ejemplo de los virus grandes, puede mencionarse el de la viruela.

Debido a esta característica de su tamaño, diminuto, los virus sólo pueden ser visualizados con la ayuda del microscopio electrónico.

A diferencia de las bacterias, los virus no aumentan de tamaño en el momento previo a su división.

Composición química

Los virus están compuestos fundamentalmente por ácido desoxirribonucleico (DNA) o ácido ribonucleico (RNA) y proteínas. Algunos también contienen lípidos.

Estructura

La parte central del virus es el **nucleoide o genoma**, el cual contiene el ácido nucleico, sea éste DNA o RNA. Tanto el DNA como el RNA pueden ser de una sola cadena o de dos, es decir, monocatenarios o bicatenarios. En términos generales el RNA es monocatenario, salvo en el grupo de los reovirus. A esta única cadena se le asigna polaridad (+), si puede ser RNA mensajero (mRNA) y (-) si sirve como plantilla para el mRNA. El DNA es bicatenario, salvo en los parvovirus.

Los ácidos nucleicos están dispuestos en forma lineal, circular o en segmentos. Esta estructura, como es de suponer, es responsable de la **información genética**. Algunos nucleoides contienen cuatro a ocho genes y los más grandes pueden llegar a contener centenares de genes.

En el ácido nucleico que constituye el genoma o nucleoide reside la **capacidad infecciosa**; es el responsable de la **forma en que se produce el mRNA**.

El ácido nucleico o genoma se encuentra rodeado por una cubierta proteica denominada **cápside** (del griego *capsa*, caja). Esta cápside es el resultado de la aglomeración de subunidades más pequeñas designadas **capsómeros o unidades morfológicas**.

Los capsómeros a su vez están constituidos por los **protómeros**, que son **subunidades proteicas**. Los capsómeros pueden ser **esféricos o prismáticos**. El número y la forma de los capsómeros se tienen en cuenta para **describir y ubicar los virus**.

La cápside **protege al ácido nucleico, facilita la adsorción** del virus a los receptores de las células que parasita, es antigénica y rígida.

A menudo los virus llevan **enzimas asociadas a su cápside**.

En algunos virus la cápside engloba al genoma, mientras que en otros ésta se forma primero, o sea, es una **procápside** que luego se completa con el genoma.

El conjunto formado por el nucleoide y la cápside recibe el nombre de **nucleocápside** (fig. 8-1).

En ciertos virus se agrega otra estructura más externa, la **envoltura** (fig. 8-1) y los virus que la poseen se clasifican como **virus envueltos**. Cuando no existe una membrana de envoltura, se dice que se trata de un **virus desnudo** (fig. 8-1).

La **envoltura** es una bicapa **lipoproteica** que deriva de la membrana nuclear o de la membrana citoplasmática de la célula parasitada por el virus (célula hospedadora).

En muchos virus con envoltura, ésta presenta **proyecciones, espículas o peplómeros** de naturaleza glucoproteica, que sirven de **fijación**, dado que son las estructuras que se unen a las células que van a ser infectadas; también pueden unirse a glóbulos rojos y provocar aglutinación **in vitro** (hemaglutinación). La envoltura hace que los virus que la poseen sean sensibles a los solventes lipídicos, se fragmenta por acidez, o sequedad, o detergentes. Sus funciones consisten en la **protección de la nucleocápside, la adherencia a los receptores celulares y la antigenicidad**.

En los *herpesvirus* entre la nucleocápside y la envoltura hay un espacio intersticial que se designa **tegumento**, contiene enzimas, otras proteínas y mRNA.

Simetrías

En los virus no se habla de formas, sino de simetrías. La simetría es la **disposición de la nucleocápside en el espacio** y de acuerdo con ello se

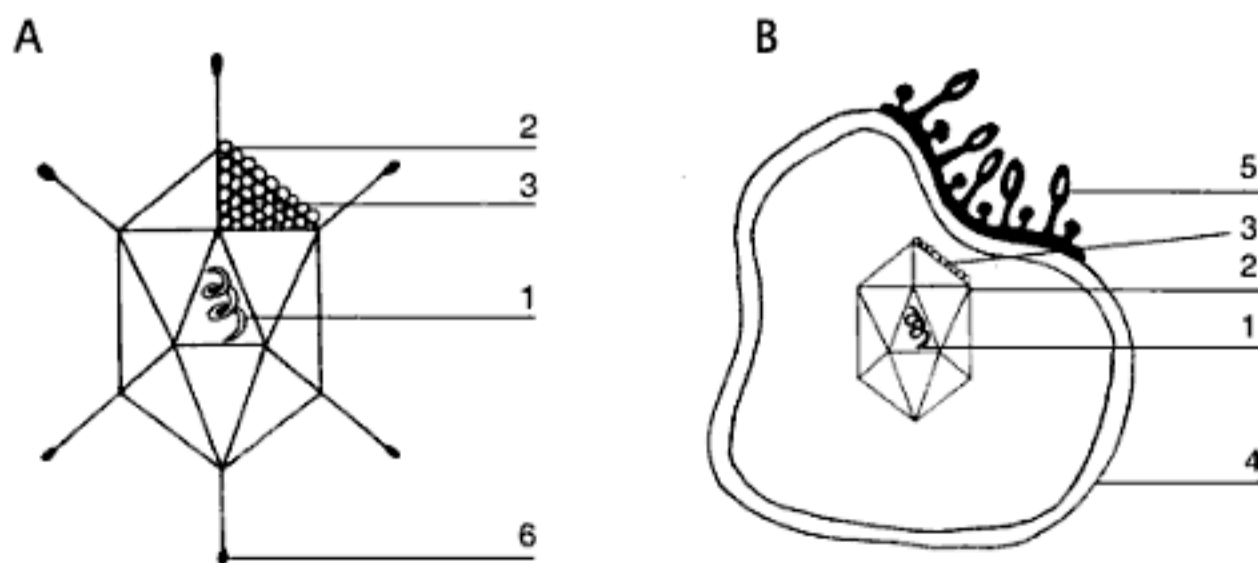


Fig. 8-1. A. Virus de nucleocápside desnuda. B. Virus de nucleocápside envuelta. 1: nucleoide; 2: cápside; 3: capsómeros; 4: envoltura; 5: espículas; 6: fibra.

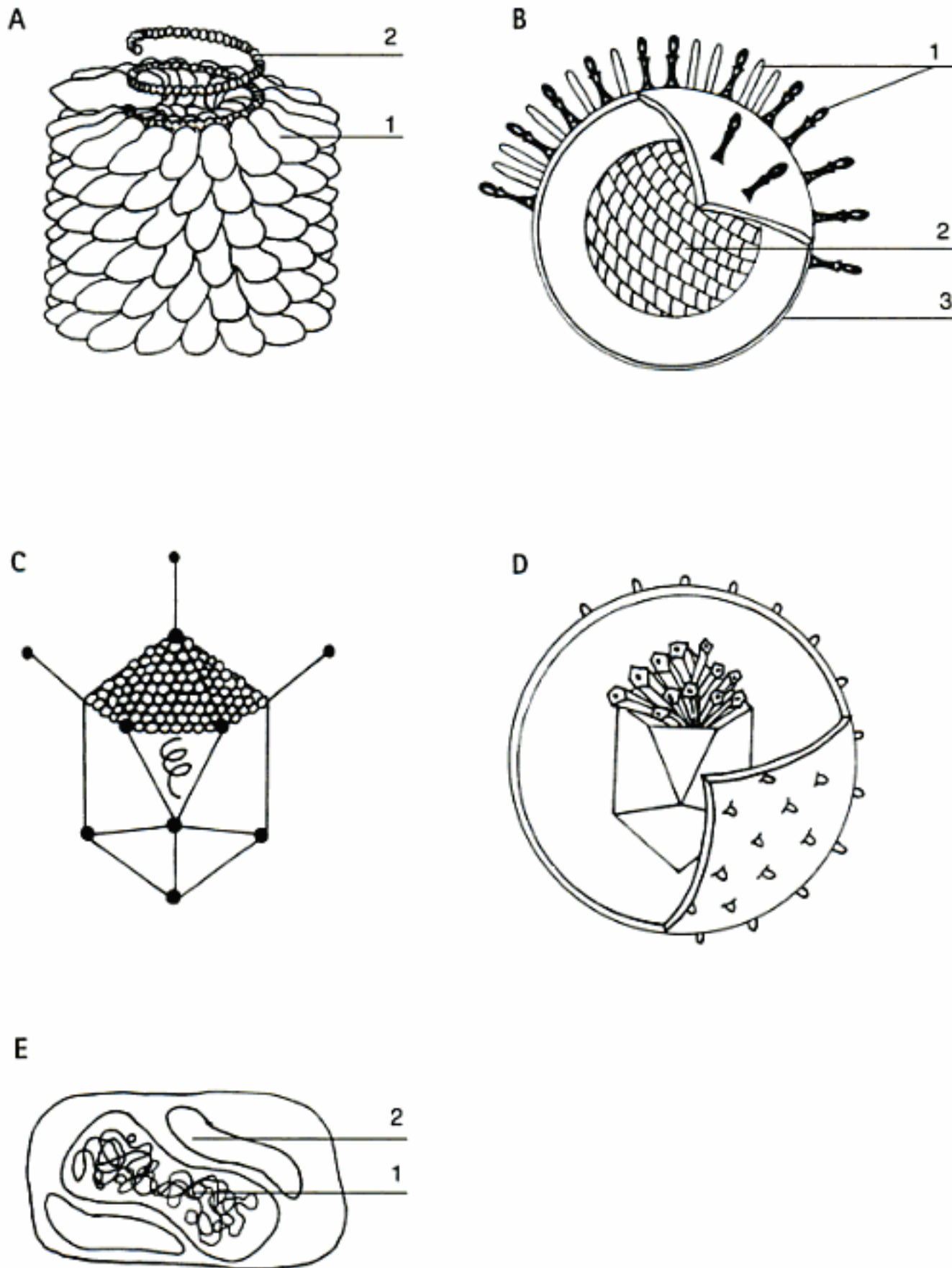


Fig. 8-2. Distintos tipos de simetría. **A.** Ejemplo de simetría helicoidal desnuda. **B.** Tipo de simetría helicoidal envuelta. **C.** Ejemplo de simetría icosaédrica desnuda. **D.** Simetría icosaédrica envuelta (*herpesvirus*). **E.** Simetría compleja. **A)** 1: capsómeros; 2: RNA. **B)** 1: espículas; 2: nucleocápside; 3: envoltura. **E)** 1: ácido nucleico; 2: cuerpos laterales (*Poxvirus* con forma de ladrillo).

observan distintos tipos: simetría helicoidal, icosaédrica, binaria o compleja (fig. 8-2).

La nucleocápside de simetría helicoidal es cilíndrica, ya sea extendida o enrollada sobre sí misma. Puede ser rígida o flexible. Todos los virus con esta simetría que infectan al hombre son envueltos.

Cuando la simetría es icosaédrica, tiene el aspecto de un poliedro; presenta veinte caras trian-

gulares, treinta aristas, doce vértices y tres ejes de simetría. La unidad más pequeña corresponde a un **capsómero**. Estos virus pueden ser **desnudos o envueltos**.

La simetría binaria se observa cuando en un mismo virus pueden presentarse las dos simetrías anteriores. Esto ocurre con ciertos virus que infectan bacterias y que se denominan **bacteriófagos**.

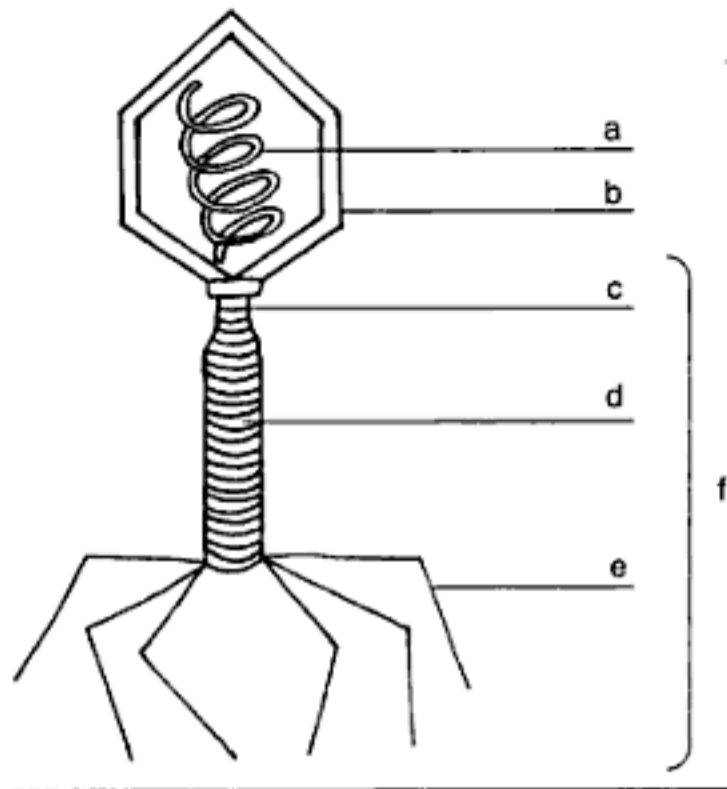


Fig. 8-3. Bacteriófago. a: DNA; b: cabeza; c: cuello; d: vaina; e: fibras; f: el conjunto que conforma la cola.

En algunos de estos virus es posible distinguir una zona, que se llama cabeza, con simetría icosaédrica y otra parte, la cola, cuya simetría es helicoidal (fig. 8-3).

Los virus de **simetría compleja** son aquellos que por tener una envoltura laxa carecen de una forma muy típica y pueden ser ovoides, esféricos o pleomorfos. Algunos autores incluyen a los bacteriófagos dentro de este último grupo y omiten la simetría binaria.

Los virus muy pequeños siempre se aprecian como esféricos.

Sensibilidad

Los virus resisten poco en el medio ambiente, debido a la desecación que pueden sufrir las células que los albergan o, en el caso de virus envueltos libres, a la labilidad asociada con la envoltura.

En cuanto a los agentes químicos véase el capítulo 11.

En términos generales los virus son más sensibles que las bacterias o los hongos a la acción de los agentes fisicoquímicos, pero no son afectados por los antibióticos.

Replicación viral

La replicación de los virus es un proceso muy particular por el cual un virus penetra en una célula que a partir de ese momento pone todos sus mecanismos a disposición de ese virus, del cual se producen muchas **copias** en su interior. En este

aspecto los virus se diferencian notoriamente de las bacterias dado que una bacteria sólo origina dos y de un solo virus puede haber hasta 100.000 copias.

En realidad, el mecanismo íntimo de este proceso está determinado por el tipo de ácido nucleico que tiene el virus. Pueden diferenciarse, en forma general, los siguientes pasos:

1. Adsorción

El virus se une específicamente a través de las proteínas de fijación a un receptor de la **célula hospedadora**.

En esta etapa se pone en evidencia el **tropismo** que tienen los virus hacia ciertas células.

El tropismo depende de la interacción entre elementos externos del virus y receptores celulares y de la presencia de factores transcripcionales presentes en ciertas estirpes o tipos celulares, y por eso la mera presencia de un receptor puede no determinar tropismo viral como por ejemplo en el virus de la poliomielitis.

Tanto los receptores celulares como las proteínas de fijación suelen ser de naturaleza glucoproteica.

2. Penetración

Es el pasaje de la partícula viral hacia el interior de la célula y puede realizarse por:

Penetración directa (sólo pasa el genoma). Es un mecanismo bien conocido y se observa en asociación con ciertos bacteriófagos.

Por endocitosis (se produce el englobamiento de los virus desnudos una vez que se han adherido). Se forma una vacuola o vesícula pequeña que contiene viriones, que luego son liberados. Este proceso también se conoce como **viropexis** o **pinocitosis**.

Por fusión. Ésta ocurre en virus envueltos, cuando se funde esa envoltura con la membrana citoplasmática.

3. Desnudamiento o descapsidación

Enzimas proteicas celulares dejan el genoma al descubierto. Esto puede ocurrir algunas veces en la membrana celular.

Las etapas descritas hasta aquí constituyen la llamada etapa inicial.

4. Etapa de expresión y replicación del genoma

Es el paso más importante de la replicación viral. Hay distintos mecanismos, ya que depende

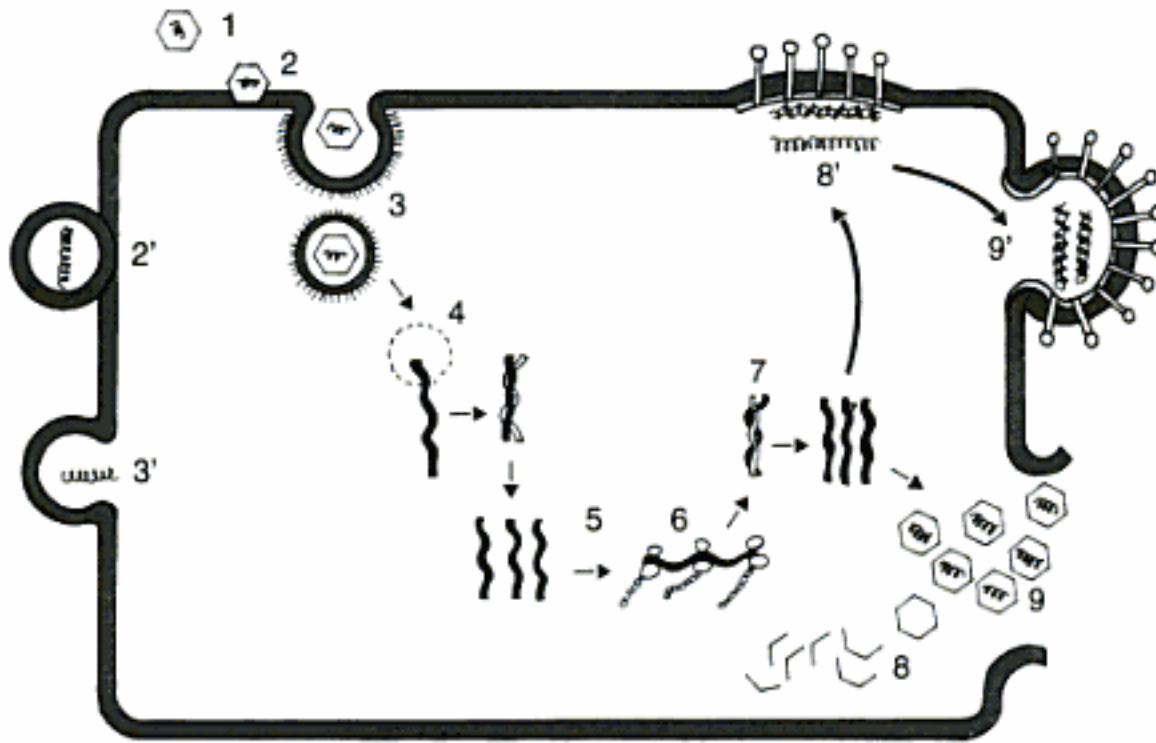


Fig. 8-4. Ejemplos de replicación viral con dos mecanismos de ingreso y de egreso de la partícula viral. 1: partícula viral y reconocimiento; 2: adsorción; 2': fusión; 3 y 3': penetración; 4: desnudación; 5: transcripción; 6: síntesis de proteínas; 7: replicación; 8 y 8': con la síntesis de proteínas tardías se produce el ensamblaje; 9: salida por lisis; 9': salida por brotación.

del tipo de ácido nucleico. Es importante la forma en que se produce el mRNA que originará las proteínas.

Esta etapa corresponde a la de **eclipse**, debido a que en ella no se recuperan partículas virales.

La mayor parte de los virus de DNA se multiplican en el núcleo de la célula y necesitan la RNA polimerasa celular para sintetizar el mRNA. Los virus RNA, a excepción de algunos pocos, se replican en el citoplasma de la célula hospedadora.

En una primera fase se transcribe el mRNA para la síntesis de **proteínas tempranas**. Éstas detienen el metabolismo celular para permitir la multiplicación viral. Luego se producen las proteínas destinadas a la síntesis y el procesamiento del ácido nucleico, y por último las **proteínas tardías** que forman la estructura y se unen al genoma.

La polaridad de la cadena de RNA es (+) cuando contiene la secuencia nucleotídica en el mismo sentido 5'-3' que el mRNA. Cuando dicha secuencia es complementaria a la del mRNA, se la designa (-).

El mRNA monocatenario (+) actúa directamente como mRNA temprano. Si el RNA monocatenario es (-), tiene que pasar a positivo por la acción de la **transcriptasa viral**. Si el virus es DNA, la transcripción a mRNA se realiza mediante la **enzima celular RNA polimerasa**, como ya se ha dicho.

Hay un grupo especial de virus, los **retrovirus**, que a pesar de ser RNA (+) poseen una enzima lla-

mada **transcriptasa inversa o reversa** que sintetiza DNA, el que luego servirá de molde al mRNA y a posteriori formará el RNA viral.

5. Maduración o ensamblaje y liberación o egreso

Ésta es la etapa en la que se unen los componentes estructurales del virus.

Esta unión puede tener lugar en el citoplasma o en el núcleo, según los virus. En los *herpesvirus* se produce en el núcleo, que brinda su membrana nuclear para la envoltura del virus. Luego los virus son trasladados a través del citoplasma en vesículas que se fusionan con la membrana celular y, finalmente, salen de la célula. La liberación, egreso o salida depende del tipo de virus.

En los virus sin envoltura se produce por la **lisis o efecto citolítico** en la célula infectada (fig. 8-4).

Otros virus con envoltura salen por un proceso de **brotación o exocitosis**, en algún punto de la membrana citoplasmática de la cual adquieren su estructura y a la que previamente han modificado.

Cuando la maduración es completa, la célula puede sufrir distintos efectos o no alterarse si se trata de **virus moderados o atemperados**.

Empero, la maduración puede no ser completa y entonces se habla de una **infección abortiva**.

Otras veces los virus no se liberan.

Los errores en el momento de la copia del genoma vírico conducen a **mutaciones** de distinto tipo

y los virus resultantes difieren de los **virus parentales o salvajes**.

Por último, hay virus que persisten en el interior de la célula y producen transformaciones en ella. Éstos son los **virus oncogénicos**, que se consideran responsables de algunos tumores.

Clasificación

Para la clasificación de los virus se tiene en cuenta el tipo y la secuencia del ácido nucleico, el número y la disposición de los capsómeros, la simetría, el tamaño, la presencia o no de envoltura, el tipo de replicación y las células que infectan, si tienen predilección por alguna célula o tejido (tropismo).

La clasificación de los virus, como muchas otras, es revisada en forma constante por un Comité especialmente destinado a tal efecto.

Los virus que comparten características se los agrupa en familias cuyo nombre termina con el sufijo *ae*, por ejemplo: *Herpesviridae* (de gran importancia odontológica).

La designación que reciben los virus refleja alguna de sus características, ya sea por el tipo de enfermedades que producen o donde fueron identificados. Otros nombres aluden a alguna característica puntual. El caso típico de los picornavirus, cuyo prefijo *pico* deriva de *picolo*: pequeño, debido a su tamaño; *RNA*, por el ácido nucleico que contiene y *virus*.

Fundamentalmente, se los divide en familias de virus DNA (dentro de la que está la familia *Herpesviridae* y agrupa a siete familias en total) y familias de virus RNA, con por lo menos catorce familias.

Cultivos virales

Como son parásitos genéticos intracelulares obligados, los virus necesitan células vivas para replicarse y es por eso que los cultivos sólo puedan desarrollarse en líneas celulares.

Antiguamente para aislar y conservar virus se recurría a animales de laboratorio, en los que se los inoculaba. Con este propósito se utilizaban conejos, cobayos, monos, ratones lactantes o adultos y huevos embrionados especialmente. Si bien todavía se utilizan animales para el estudio de algunas virosis, en la actualidad la mayoría de los virus se cultivan en líneas celulares, porque éstas son más fáciles de obtener, resultan menos onerosas, no exigen tantos cuidados y permiten evitar la contaminación bacteriana con el agregado de antibióticos. Por lo tanto, los cultivos se pueden realizar *in vitro*, en tubos o en botellas donde crecen las célu-

las que van a infectarse o también pueden emplearse cultivos de órganos.

Acción citopatogénica

Al replicarse muchos virus causan alteraciones en las células y esto se conoce como **efecto citopatogénico o acción citopatogénica**.

Con el auxilio del microscopio óptico algunas de estas acciones pueden apreciarse en los cultivos, como por ejemplo el **cambio de forma** de las células.

Otros virus producen la unión de células vecinas con fusión de sus membranas y dan origen a **sincicios**, que son células gigantes policariocíticas. Algunos causan la lisis de las células, son **citocídicos**, y otros conducen a la formación de cúmulos conocidos como **cuerpos de inclusión**. Según de qué virus se trate estos cuerpos pueden formarse en el núcleo o en el citoplasma. Estas alteraciones pueden orientar el diagnóstico, pero no son patognómicas debido a que más de un virus puede producir el mismo efecto.

Interferencia viral

Los virus que no ejercen ninguna acción citopatogénica (ACP) a veces pueden individualizarse por las proteínas que liberan hacia el medio o se expresan en células infectadas, o porque impiden la replicación de otros virus. Éste es el fenómeno de **interferencia viral**, que antes solía usarse con fines diagnósticos, por ejemplo para evidenciar el virus de la rubéola.

Vías de transmisión de las virosis

Las enfermedades debidas a estos agentes infecciosos se denominan **virosis**.

Entre las vías de transmisión de las **virosis** se encuentran el **contacto directo** a partir de secreciones respiratorias, saliva o secreciones genitales infectadas y por la **vía parenteral** a través de picaduras de insectos o transfusiones. En ocasiones los rinovirus, para producir el resfrío, pueden pasar de un individuo a otro **a través de objetos**, tales como los juguetes. La madre, **a través de la placenta**, puede transmitirle al feto el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). Otros virus, que se transmiten por esta vía, son el parvovirus B19, el citomegalovirus, el virus de la rubéola y el virus de la hepatitis B (véase cap. 25).

Las infecciones y las enfermedades virales pueden ser subclínicas, agudas o crónicas, localizadas o generalizadas e incluso recurrentes, como se verá más adelante (ver cap. 17).

Algunos virus de la familia *Herpesviridae*, ciertos retrovirus (como el HTLV-I), los papovavirus, los papilomavirus 4 PV16 y 18, y el virus de la hepatitis B se consideran virus con **capacidad cancerígena**. Esto ha sido comprobado tanto en los animales como en el hombre y puede deberse a que los virus lleven un **oncogén** de la célula hospedante o se incorporen al genoma de ésta en estado de **provirus** (véase más adelante), con lo que se produciría una transformación celular.

Mecanismos de transformación celular

De acuerdo con los datos disponibles hasta el momento existen diversos mecanismos de transformación celular, a saber: a) por presencia de oncogenes virales (p. ej., virus del sarcoma), b) por inserción del genoma viral en el celular, lo que hace que el protooncogén celular quede bajo la regulación de un promotor viral (p. ej., virus de la leucemia), c) por inhibición de proteínas supresoras de tumores, como p53 y la proteína del retinoblastoma (papilomavirus), d) mediante actividad transactivadora de transcripciones de genes celulares (p. ej., proteína X), e) actividad serpina (del inglés *serine protease inhibitory activity*), que inhibe a las serina proteasas y así aumenta la vida media de factores transcripcionales (p. ej., virus de la hepatitis B), etcétera.

VIRIÓN, VIROIDE, PROVIRUS, SEUDOVIRIÓN, PRIÓN, BACTERIOFAGOS

Virión

Un **virión** es la partícula viral completa y con capacidad infectante. No todas las partículas virales maduran y se ensamblan correctamente, y esto puede dar lugar a **virus defectivos**; estos últimos pueden provocar **interferencias** con otros virus, pueden unirse a receptores celulares, o bien, pueden **multiplicarse sólo en presencia de otro virus**. Éste es el caso del virus de la hepatitis D, que necesita la envoltura del virus de la hepatitis B para formar su propio virión.

Una porción del RNA del virus de la hepatitis D se comporta como el RNA de los viroides, que por ser defectuosos carecen de la capacidad de replicarse en forma autónoma y necesitan coinfectar células con el virus de la hepatitis B.

Viroide

Los **viroides**, que como su nombre lo indica, son similares a los virus, se les asemejan porque

están constituidos por ácido nucleico, son parásitos estrictos y su genoma no codifica proteínas. Los viroides carecen de cápside y envoltura, y sólo infectan plantas.

Provirus

Si el genoma de un virus se integra al de la célula hospedante, se dice que constituye un genoma proviral.

Seudovirión

Los **seudoviriones** contienen el ácido nucleico de la célula hospedante pero poseen cápside.

Prión

Por último, los **priones o agentes no convencionales** (*proteinaceous infectious particles*) son hebras de proteínas autorreplicantes. No forman una cápside ni se les ha detectado, asociados con ellas, ácido nucleico alguno. Son proteínas anormalmente plegadas que pueden producir cambios en otras proteínas causando su agrupamiento (*clumping*).

Los priones causan infecciones lentas del sistema nervioso central en el hombre y en el ganado (locura bovina o "mal de la vaca loca", *scrapie*, prurito en ovinos, etc.). En el hombre se los relaciona con cuatro enfermedades, a saber, una demencia presenil o enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, otra enfermedad denominada kuru o ataxia degenerativa observada en el pasado en una tribu con hábitos canibalísticos en la isla de Guam, una enfermedad con bases genéticas e infecciosas (síndrome de Gerstmann-Straussler-Sheinker) y el insomnio familiar fatal.

Los priones son muy resistentes a la acción de los agentes físicos (calor) y químicos que actúan sobre los virus (véase cap. 11) (cuadro 8-1).

Bacteriófago

Los **bacteriófagos** son virus que infectan bacterias. Como se dijo al comienzo, uno de ellos posee simetría binaria, con una cabeza icosaédrica, en la que reside el ácido nucleico (DNA), y una cola helicoidal en la que se distingue una zona más estrecha o cuello (fig. 8-3).

Ese bacteriófago posee fibras en el extremo de la cola y espículas, por medio de las cuales se une a la pared celular de la bacteria que parasitará. Luego penetra sólo el ácido nucleico, a través de una enzima que libera (**lisozima del fago**), por una contracción de la cola. A continuación se produce la biosíntesis de los componentes virales, seguida

Cuadro 8-1. Características comparativas entre virus y priones.

Característica	Virus	Priones
Ácido nucleico	Sí	No
Cápside	Sí	No
Proteínas	Sí	Sí (en hebras)
Envoltura lipoproteica	Sólo los envueltos	No
Sensibilidad al calor y algunos agentes químicos	Sí	Más resistentes al calor No sensibles a los agentes químicos
Capacidad infecciosa	Sí	Sí
Afectan	Plantas, animales, hombre, microorganismos	Animales y hombre
Infecciones lentas	Algunos virus	Sí

de la maduración y, por último, la liberación. El proceso completo demanda 20 a 40 minutos y se conoce como **tiempo de explosión**.

La replicación del virus puede provocar la lisis o muerte de la célula y por eso se dice que es un **ciclo lítico**.

La infección por un bacteriófago o fago no siempre produce la muerte de la bacteria. El fago puede introducir su DNA en la bacteria y permanecer en ella en estado de latencia. Este **estadio de latencia** se conoce con el nombre de **lisogenia**. Los fagos que son capaces de producir este tipo de

infección en la bacteria se conocen como **fagos lisogénicos o fagos atemperados**. Las células hospedantes son **células lisogénicas**.

Cuando una bacteria está parasitada por un fago atemperado, puede modificar alguna de sus características. Por ejemplo, el bacilo productor de la difteria sintetiza una potente toxina sólo cuando se encuentra en estado de lisogenia. Lo mismo ocurre con el agente de la escarlatina, con el del botulismo y con el del cólera.

En la mucosa oral pueden manifestarse diversas virosis (véase cap. 25).

Resumen

Los virus son agentes infecciosos que parasitan animales, vegetales, e incluso parásitos y bacterias. El tamaño de los virus varía entre 20 a 300 nm y hasta 1.000 nm.

Se los visualiza con el microscopio electrónico.

Tienen simetría icosaédrica, helicoidal, binaria o compleja.

Cada partícula viral tiene un **ácido nucleico** que es responsable de la información genética y de la infectividad del virus, está rodeado por la cápside, formada por subunidades proteicas, los capsómeros. Su función consiste en proteger al ácido nucleico y favorecer la adhesión a la célula huésped. Además, es una estructura antigénica.

Algunos virus poseen otra estructura más externa, la **membrana lipoproteica** de envoltura, que es sensible a los solventes lipídicos y que en ciertos virus presenta proyecciones, espículas o peplómeros que les permiten unirse a la célula que van a parasitar y les dan antigenicidad.

El **mecanismo de reproducción**, que es muy particular y se llama **réplica o copia**, se produce en varias etapas bien diferenciadas, a saber, la adsorción, la penetración, la descapsidación, la expresión y la replicación del genoma, la maduración y el ensamblaje y, por último, la liberación. Estas etapas de la replicación pueden conducir a una infección productiva con efecto citopático o no, a una infección abortiva (si no se completa), a una mutación, a un estado de latencia si el virus no se libera o a una transformación si se mantiene en la célula, lo que origina cambios en ella.

La clasificación de los virus es compleja, tiene en cuenta en principio el ácido nucleico que poseen, el tamaño, la simetría, la acción patógena que producen y alguna otra característica.

Para cultivar los virus es necesario utilizar células vivas obtenidas de animales (cultivos primarios) o de pasajes de líneas celulares u órganos.

Cuando los virus se replican, en general ejercen alguna acción sobre la célula hospedadora; esto se conoce como acción citopatogénica (ACP). Puede producirse la lisis celular o la acción citocídica, o la formación de sincicios o cuerpos de inclusión.

Algunos virus pueden diferenciarse porque evitan que se replique otro virus; es la interferencia viral.

Los virus se transmiten por distintas vías, y producen infecciones y enfermedades con distinta evolución y localización.

Provirus: es el genoma viral que se incorpora al de la célula hospedante.

Virión: es la partícula viral completa, con capacidad infectante.

Viroide: sólo está constituido por ácido nucleico que no codifica proteínas; infecta plantas.

Virus defectivo: no puede replicarse sin la coinfección por otros virus.

Seudovirión: contiene el ácido nucleico de la célula hospedadora y cápside.

Prion o agente no convencional: sólo hebras de proteínas, con capacidad de infectar.

Bacteriófago: virus bacteriano con simetría binaria. Los bacteriófagos producen lisis bacteriana o estado de lisogenia. En este último caso alteran las propiedades del microorganismo; se trata de un fago lisogénico o atemperado.

Preguntas de revisión

1. Mencione cinco características de los virus.
2. ¿Qué tipos de organismos pueden parasitar los virus?
3. ¿Dentro de qué tamaños máximo y mínimo están los virus?
4. Describa la composición y la estructura de los virus.
5. ¿Qué funciones cumplen las distintas estructuras virales?
6. Hable de la membrana de envoltura y cite todas sus características.
7. ¿Qué tipos de simetría viral puede mencionar?
8. ¿Qué características tiene la replicación viral?
9. ¿Puede citar los pasos principales de la replicación viral?
10. Mencione las distintas formas en que se comportan los virus una vez que han madurado.
11. ¿Cómo se cultivan los virus?
12. ¿A qué se llama efecto o acción citopatogénica?
13. Cite distintos tipos de acciones citopatogénicas.
14. ¿Por qué mecanismos pueden transmitirse las virosis?
15. Defina virión, viroide, virus defectivo, provirus, pseudovirión y prion.
16. ¿Qué diferencias puede enumerar entre virus y prion?
17. Explique qué es un bacteriófago y sus efectos.

BIBLIOGRAFÍA

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 6: Clasificación, estructura y replicación de los virus. En: Microbiología médica. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006; pp. 47-66.
Negróni M. Capítulo 7: Virus. Generalidades. En: Negróni M.

Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 45-54.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Chapter 13: Viruses, viroids and prions. En: Microbiology. An introduction. 8ª ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2004; pp. 377-407.

SECCIÓN 3

Micología

9

HONGOS

1° PARTE

GENERALIDADES

Ricardo Negroni

Contenido

Micología. Definición y acciones de los hongos en la naturaleza. Reseña histórica. Reino *Fungi*. Células fúngicas. Talo y micelio. Elementos especiales del micelio. Fructificación.

Objetivos

- Definir el reino *Fungi*.
- Estudiar la ultraestructura de la célula fúngica.
- Describir el talo unicelular y pluricelular.
- Enumerar las distintas variedades de talo.
- Citar los elementos de fructificación y los mecanismos de producción de las esporas.
- Establecer la relación entre fisiología fúngica y morfogénesis, así como el significado del dimorfismo y del pleomorfismo.
- Diferenciar a los *Eumycota* de las bacterias (*Schizomycotas*).

MICOLOGÍA

Definición y acciones de los hongos en la naturaleza

La micología es la ciencia que estudia los hongos. Estos seres vivos que en un principio fueron clasificados como vegetales inferiores carentes de la propiedad de formar tejidos (*Thallophytas*) actualmente se consideran parte de un reino especial llamado *Fungi* o *Eumycota*, del Dominio *Eukarya*.

Los hongos son conocidos por el hombre desde la antigüedad. Los egipcios los empleaban en la fermentación de la cerveza; su utilidad en la industria de las bebidas y la alimentación es bien conocida; se los utiliza para la fermentación alcohólica, la producción de pan, la maduración de quesos y embutidos, como alimentos y para la producción de condimentos. Los hongos también ejercen efectos nocivos y como patógenos de los vegetales han provocado crisis muy graves de la humanidad por falta de alimentos. Cuando contaminan granos almacenados y alimentos balanceados, originan en ellos micotoxinas que pueden provocar diversas intoxicaciones en los animales y también, con

menor frecuencia, en los seres humanos (aflatoxinas, tricotecenos, ergotamina, etc.). En las últimas décadas la asociación de hongos con vegetales en forma de micorrizas ha sido empleada para mejorar el desarrollo de los cereales y otras plantas usadas como alimentos.

Estos microorganismos también se emplean en la industria química para la producción de ácidos orgánicos (glutámico, cítrico) y en la industria farmacéutica para elaborar antibióticos antibacterianos (penicilina, cefalosporinas) e incluso antifúngicos (griseofulvina).

La mayor parte de los hongos viven en la tierra o sobre vegetales, especialmente en lugares húmedos, y desempeñan un papel muy importante en el reciclado de la sustancia orgánica (cuadro 9-1).

Se considera que existen aproximadamente 300.000 especies de hongos, de las cuales sólo algo más de 200 se estudian en micología médica y veterinaria.

Reseña histórica

La micología médica y veterinaria comenzó en 1807 cuando Agostino Bassi estudió el agente causal de la enfermedad del gusano de seda. Hacia mediados del siglo XX, Remark y más tarde Gruby

Cuadro 9-1. *Reino Fungi*

Hábitat	Para casi todos tierra y vegetales	
Hongos	{ Saprófitos Patógenos De utilidad industrial	{ Para los animales Para el hombre Para los vegetales

descubrieron el agente productor del favus del cuero cabelludo y Wilkinson describió la candidiasis vaginal. Los hongos responsables de las infecciones fúngicas llamadas micosis profundas y sistémicas se descubrieron recién hacia fines del siglo XIX y comienzos del XX. El interés por esta rama de la ciencia se incrementó notablemente en las últimas tres décadas debido a un considerable aumento de la frecuencia de las infecciones debidas a hongos. Este aumento se produjo como resultado del incremento de las causas de inmunodepresión, como por ejemplo el empleo de corticosteroides, drogas antiblásticas y agentes inmunosupresores, los trasplantes de órganos, la pandemia del SIDA, etc. Estas circunstancias determinaron que muchos hongos considerados inofensivos produjeran enfermedades graves e incluso fatales (micosis oportunistas o **astenomycosis**).

Los textos de micología médica habitualmente sólo se ocupan de las infecciones causadas por los hongos verdaderos, llamados *Eumycotas*, en el género humano y en los animales, y por lo general excluyen las afecciones debidas a micotoxinas, que son tratadas en los libros de toxicología. Muchos textos también incluyen las bacterias filamentosas del orden *Actinomycetales* que originan afecciones cuyas características clínicas e histopatológicas se asemejan a las observadas en las infecciones fúngicas (véase cap. 21). Estas últimas habitualmente se denominan **micosis**.

REINO FUNGI

La definición del reino *Fungi* no resulta sencilla debido a la gran diversidad de especies que incluye y a sus diversos caracteres morfológicos y fisiológicos.

Los hongos son eucariotas, es decir que poseen un núcleo estructural con membrana nuclear. Este núcleo habitualmente es pequeño, resulta invisible en los preparados comunes y su observación sólo es posible cuando se recurre a la tinción con hematoxilina férrica o al estudio con microscopio electrónico de transmisión. Los hongos no son capaces de formar tejidos y presentan un cuerpo denomi-

nado **talo que puede ser unicelular o pluricelular**. En este último caso tiene el aspecto de tubos cilíndricos con células encolumnadas y produce ramificaciones hasta constituir un desarrollo macroscópicamente visible. Este talo pluricelular recibe el nombre de micelio y las ramificaciones de éste, que se llaman hifas, crecen por su extremo distal (crecimiento apical). Otra característica general importante de los hongos es que carecen de clorofila y, por lo tanto, son heterótrofos, es decir que necesitan vivir sobre sustancia orgánica viva o muerta; en el primer caso son parásitos y en el segundo, saprobios.

La nutrición tiene lugar mediante la incorporación de agua, sales, aminoácidos y monosacáridos a través de la pared celular y estos microorganismos necesitan una apreciable cantidad de enzimas hidrolíticas para degradar sustancias orgánicas complejas, como las proteínas, los polisacáridos y los lípidos.

Los *Eumycota* poseen una pared celular rígida dotada de propiedades importantes e integrada por quitina, glucanos, mananos y proteínas. La presencia de quitina es rara en la naturaleza y además de en estos hongos sólo se la observa en el exoesqueleto de los insectos.

La reproducción de los hongos se produce por la formación de esporas, que son células uninucleadas o multinucleadas destinadas a la diseminación y propagación de la especie a distancia. Las esporas pueden ser asexuadas o sexuadas; estas últimas se originan a partir de la fusión de dos células progenitoras, con una plasmogamia inicial, seguida de una cariogamia (fusión de los núcleos) con una fase diploide y la posterior meiosis reduccional que producirá un número de 2 o 2ⁿ esporas sexuadas.

En los hongos pluricelulares el micelio presenta una parte destinada a cumplir funciones de crecimiento vegetativo y captación de los nutrientes a partir del sustrato (micelio vegetativo) y otra que da origen a los elementos de esporulación (micelio de fructificación).

Las esporas de los *Eumycota* son inmóviles, porque carecen de flagelos; en la última década la división *Mastigomycotina*, que incluía microorganismos con esporas flageladas, ha sido eliminada del reino *Fungi* y ubicada en el reino *Protoctista*. En esta división se encontraban los integrantes del orden *Saprolegniales*, agentes causales de infecciones en los peces y en los equinos.

En resumen, los *Eumycota* son microorganismos unicelulares o pluricelulares eucariotas que no producen tejidos diferenciados, carecen de clorofila y poseen un cuerpo denominado talo, que cuando es pluricelular forma una estructura llamada micelio que es filamentosa y ramificada, y crece

por su extremo distal; la reproducción tiene lugar por medio de esporas inmóviles (sexuadas o asexuadas). La nutrición se basa en sustancia orgánica a la que degradan por medio de sus enzimas hidrolíticas; los elementos químicos más simples atraviesan la pared celular, una estructura rígida que posee quitina, glucanos, mananos y proteínas (cuadro 9-2).

Células fúngicas

Las células fúngicas poseen todos los elementos habituales de las células eucariotas. Si se analizan sus componentes **desde afuera hacia adentro, la primera estructura es la cápsula**. Esta cubierta, que está situada por fuera de la pared celular y sólo se observa en unas pocas especies de hongos, está compuesta por **polisacáridos especiales**, habitualmente **glucoroxidomananos**, que le brindan a la célula una mayor protección, en especial frente a las defensas del hospedero.

La **pared celular**, que, como ya se ha dicho, es una estructura rígida cuyos componentes también han sido mencionados, presenta dos integrantes principales: un componente fibrilar, la **quitina**, y otro amorfo, la asociación de glucanos o mananos con proteínas. La pared celular le da al hongo su forma característica, le brinda protección, por su permeabilidad permite el pasaje de elementos nutritivos y la eliminación de residuos metabólicos y, finalmente, sus integrantes, al ser proteínas y polisacáridos de alto peso molecular, se comportan como antígenos que originan una respuesta inmune específica en el hospedero. Ciertos comensales de la cavidad bucal, como los hongos del género *Candida*, poseen paredes celulares que desempeñan un papel muy importante en la adherencia a las células epiteliales; esta última es un paso inicial sustancial en el desarrollo de la capacidad invasora de estos microorganismos.

Cuadro 9-2. *Dominio Eukarya, reino Fungi, división Eumycota*

Organismos	Eucariotas
Número de células	Unicelulares o pluricelulares
Formas	Esféricas o cilíndricas, aisladas o formando tubos con ramificaciones, a veces dimorfismo
Tamaño	Variable de 2 a 6 μm a 300 μm
Reproducción	Sexuada o asexuada
Metabolismo	Heterotrófico, aerobio o microaerófilo y mesófilos

Por dentro de la pared celular se encuentra la **membrana plasmática**, que está integrada por **fosfolípidos y proteínas**, y emite invaginaciones en forma de ovillos membranosos llamados **mesosomas**. La membrana plasmática es rica en sistemas enzimáticos; uno de ellos, el **citocromo P450**, se destaca por su importancia en el metabolismo y porque su funcionamiento está ligado a la síntesis del ergosterol, que es el principal esteroide de estas células y con frecuencia representa un blanco utilizado por las drogas antifúngicas para ejercer su función. En el citoplasma existen **estructuras membranosas** idénticas a la membrana plasmática que en general se asocian con ribosomas y que en su conjunto constituyen el **retículo endoplasmático**. Algunas de estas formaciones poseen funciones similares a las del **aparato de Golgi** y producen unas estructuras llamadas **microvesículas**. Se piensa que éstas cumplen la misión de transportar energía y habitualmente su número es mayor en el extremo distal de las hifas, donde se produce el crecimiento apical o en el sitio de emisión de los brotes en el talo unicelular.

Los **ribosomas** son orgánulos pequeños que producen las proteínas propias, están integrados por **ácido ribonucleico y proteínas**, y poseen un **peso molecular de 80S**, razón por la cual son diferentes de los ribosomas bacterianos, que presentan un peso molecular de 70S. Pueden disponerse aisladamente o adosados a las estructuras membranosas del sistema retículo endoplasmático para constituir los llamados **polirribosomas**.

Las **mitocondrias** poseen **ácido desoxirribonucleico autorreplicable** y su aspecto morfológico varía con las condiciones del medio. En aerobiosis presentan el aspecto característico con crestas mitocondriales nítidas, y producen oxidasas y peroxidasas. En anaerobiosis, cuando el metabolismo fúngico se orienta hacia los procesos fermentativos, las mitocondrias son menos numerosas y las crestas mitocondriales pierden nitidez.

En el citoplasma también hay **elementos de reserva**, constituidos por **inclusiones lipídicas o de glucógeno, y la vacuola central** contiene agua, sales y cristaloides. El **núcleo posee una membrana porosa** que permite una amplia comunicación con el citoplasma. Cada núcleo tiene entre **dos y cuatro cromosomas** y un **nucléolo**, y en el período premitótico puede observarse un **centríolo** (véanse cuadro 9-3 y fig. 9-1).

La **división nuclear** se produce por **mitosis**, con la peculiaridad de que la membrana nuclear no desaparece durante el proceso. En el caso de los hongos con fase sexuada hay núcleos diploides y se produce la meiosis.

Cuadro 9-3. *Célula fúngica*

Organización	Más compleja que en el caso de las bacterias
Cápsula	Ausente o presente (glucuroxidomananos)
Pared celular	Quitina, mananos, glucanos y proteínas
Membrana celular	Con mesosomas y citocromo P450 para la síntesis de ergosterol
El citoplasma contiene:	Ribosomas de 80S, a veces polirribosomas, retículo endoplasmático con microvesículas, nucléolo y membrana, mitocondrias, inclusiones

Talo y micelio

Como ya se ha dicho, el talo puede ser unicelular o micelial (cuadro 9-4).

El aspecto macroscópico de ambos es diferente. El unicelular produce colonias mucosas, de diversos colores (fig. 9-4) que desarrollan en la superficie del medio de cultivo y son visibles a partir de uno a siete días de incubación. Los hongos miceliales originan colonias vellosas, lanosas o pulverulentas (fig. 9-5) con tres tipos de micelio, uno sumergido en el medio de cultivo, otro en la superficie de éste (micelio rampante) y otro aéreo que es el que le otorga la textura a la

colonia. El desarrollo de los hongos miceliales es más lento y requieren lapsos de incubación que varían entre 7 a 30 días.

Los hongos con un talo unicelular se conocen habitualmente como levaduras u hongos levaduriformes (fig. 9-2-A), mientras que los pluricelulares se denominan vulgarmente mohos. Estos últimos pueden poseer hifas tabicadas o continuas. Las hifas carentes de tabique reciben el nombre de micelio cenocítico. En el micelio tabicado los segmentos entre dos tabiques son multinucleados y los tabiques no son continuos, sino que presentan uno o más poros a través de los cuales puede esta-



Fig. 9-1. Esquema de una célula eucariota. 1: Retículo endoplasmático (RE) rugoso. 2: Microtúbulos. 3: Mitocondria. 4: Núcleo. 5: Complejo de Golgi. 6: Vacuola. 7: Ribosomas. 8: Inclusión. 9: Membrana citoplasmática. 10: Pared celular. 11: Otra inclusión. 12: Citoplasma. 13: Nucléolo. 14: Microfilamentos. 15: Cápsula (presente o no). 16: Centríolos. 17: RE/LISO.

Cuadro 9-4. Clasificación según el número de células

Hongos	Unicelulares (Levaduras)	Pueden dar pseudomicelios			
	Pluricelulares	<table border="0"> <tr> <td>Continuo</td> <td>Vegativo</td> </tr> <tr> <td>Tabicado</td> <td>De fructificación</td> </tr> </table>	Continuo	Vegativo	Tabicado
Continuo	Vegativo				
Tabicado	De fructificación				

blecerse un intercambio fácil de material citoplasmático e incluso el pasaje de núcleos. Las hifas con este tipo de micelio presentan un diámetro mínimo de 2 a 6 μm , en tanto que las hifas cenocíticas habitualmente son más anchas con 10 a 15 μm de diámetro (fig. 9-2).

En una hifa tabicada el segmento apical presenta una pared celular más fina en su extremo distal, hay un denso conglomerado de microvesículas cerca del ápice y todo el segmento es más rico en orgánulos, en particular mitocondrias. Cerca de los tabiques se encuentra un corpúsculo electrodensito llamado cuerpo de Woromin, cuya función aparentemente consiste en ocluir los poros septales en caso de necesidad. Cuando las condiciones del sustrato no son muy favorables, en ciertas especies fúngicas miceliales se diferencia un segmento de la hifa para cumplir funciones de elementos de resistencia. Estas células, que reciben el nombre de clamidoconidios o clamidosporas, son esféricas, poseen una pared celular de mayor espesor y tanto el núcleo como los orgánulos citoplasmáticos están incluidos dentro de una gran vacuola lipídica que los protege.

Elementos especiales del micelio

Algunas hifas se diferencian especialmente para penetrar dentro del sustrato y absorber mejor los nutrientes, se ramifican como las raíces de las plantas y reciben el nombre de **rizoides**.

En algunos casos las hifas del micelio se agrupan para formar un fieltro denso de filamentos entrelazados que se denomina **plecténquima**. Estas estructuras pueden formar parte de elementos de resistencia del micelio, conocidos con el nombre de **esclerotes**, o integrar las membranas protectoras de ciertos frutos. Los esclerotes son esféricos u ovoides, miden aproximadamente 1 a 2 mm de diámetro, poseen un color oscuro y están exclusivamente integrados por plecténquima (cuadro 9-5).

El **talo unicelular** se reproduce por escisión o por la emisión de brotes o gemas (**blastoconidios**). En el primer caso, cuando la célula alcanza un tamaño adecuado, da origen a un tabique que la separa en dos; habitualmente estas células tienen forma cilíndrica. Las células esféricas u ovoides se caracterizan por producir brotes en un extremo; estos brotes reciben el nombre de blastoconidios.

En algunas especies los blastoconidios se elongan y no se separan de la célula madre; luego emiten una sucesión de brotes elongados y unidos entre sí, y así se origina una estructura parecida al micelio que se denomina **seudomicelio o seudohifa**. Sin embargo, a nivel de cada tabique hay una zona de diámetro más estrecho, a la inversa de lo que sucede en el micelio verdadero, que tiene la forma de una caña de bambú (fig. 9-2).

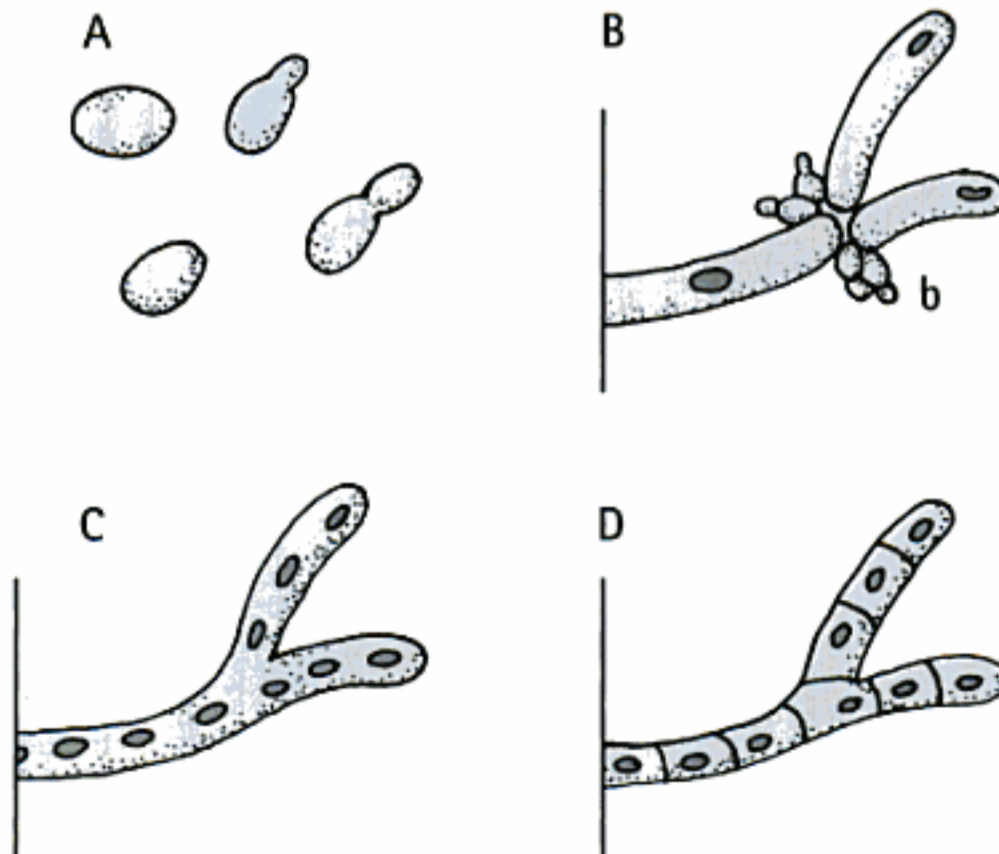


Fig. 9-2. Distintos tipos de talo. A. Unicelular. B. Seudofilamentoso (b, blastoconidio). C. Talo o micelio continuo. D. Talo o micelio tabicado.

Cuadro 9-5. Elementos de resistencia

Clamidoconidios
Plecténquima
Esclerotes

La morfología de algunos hongos varía cuando cambian las condiciones del medio donde se desarrollan, lo que demuestra que existe una relación entre la fisiología y la morfogénesis. Los integrantes del género *Candida*, por ejemplo, crecen como levaduras con blastoconidios en medios ricos en monosacáridos o disacáridos y en condiciones de aerobiosis, en tanto que forman pseudohifas en medios que poseen polisacáridos como fuente de carbono y en microaerobiosis.

Varios agentes causales de micosis profundas, como *H. capsulatum*, *P. brasiliensis*, *B. dermatitidis*, *C. immitis*, *S. schenckii* y los hongos pigmentados responsables de la cromoblastomycosis, presentan en los tejidos una morfología totalmente diferente de la que exhiben en los cultivos.

Como invasores de los tejidos adoptan una forma esférica, o levaduriforme con blastoconidios o endosporas, según los casos; en tanto que en los cultivos en medios pobres e incubados a temperatura ambiente originan un micelio con diversos tipos de esporulación. En todos estos casos el fenómeno de cambio de la morfología se denomina **dimorfismo** y no sólo se observa en hongos pará-

Cuadro 9-6. Tipos de esporas

Esporas	Asexuadas	Blastoconidios Arthroconidios Fialosporas Anelosporas Simpodulosporas Porosporas Aleuriosporas
	Sexuadas	Cleistotecio Apotecio Peritecio Zigote Basidio con basidiosporos

sitos de animales, sino también en saprobios como el *Mucor rouxi*, que crece como un micelio cenocítico en los cultivos estáticos y como un talo unicelular brotante cuando se lo somete a incubación agitada.

Fructificación

Habitualmente los hongos pluricelulares destinan una parte del micelio a la formación de las esporas y esta porción diferenciada se denomina **micelio de fructificación**.

Las esporas asexuadas externas se conocen con el nombre genérico de **conidios** y se observan con frecuencia entre los hongos de interés médico.

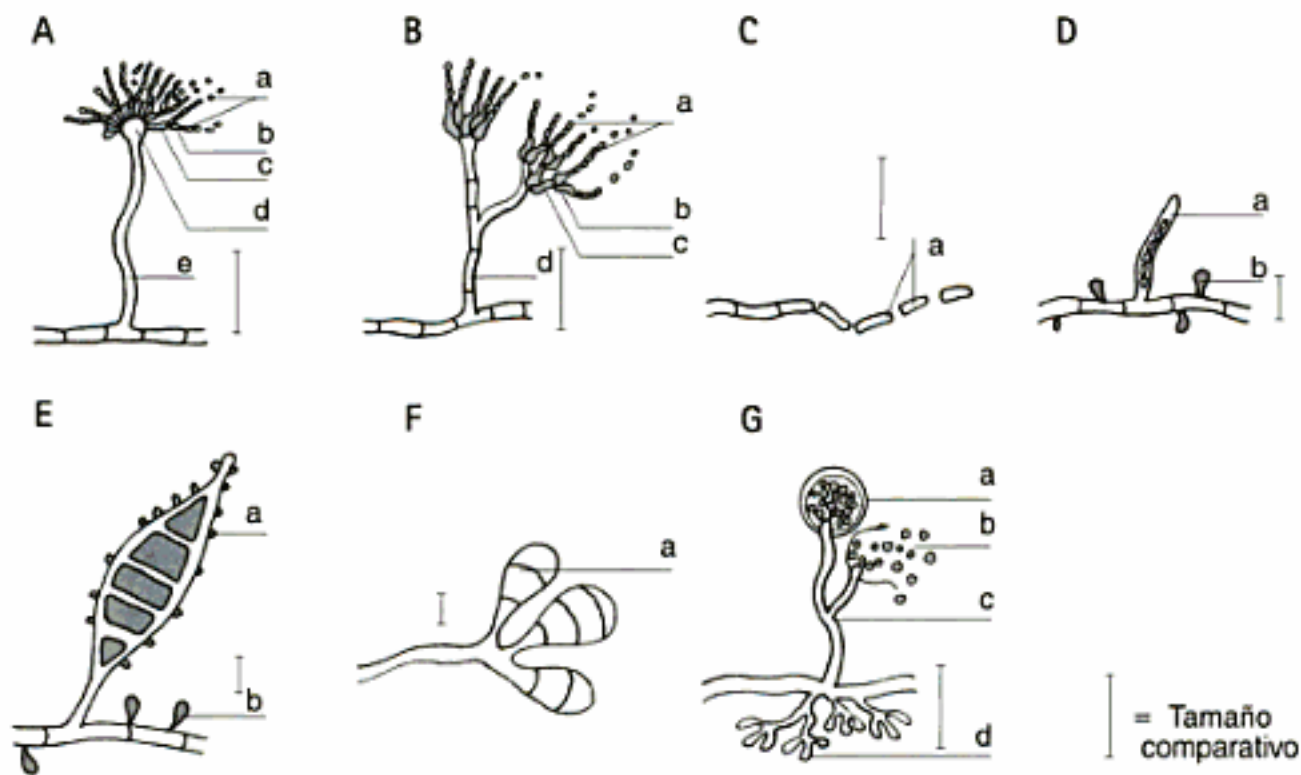


Fig. 9-3. Algunos tipos de esporas asexuadas. A. Esporas asexuadas externas: a, conidios; b, fiálides; c, metulas; d, vesícula; e, conidióforo (tipo *Aspergillus*). B. ídem de un *Penicillium*: a, conidios; b y c, ramificaciones, metulas y esterigma; d, esporóforo. C. a, arthroconidio. D. a, macroconidio; b, microconidio de un *Trichophyton*. E. a, macroconidio (fragsmospora, rugosa); b, microconidio, liso. F. a, otro tipo de fragsmoporas. G. Esporangio con esporas asexuadas internas; a, pared; b, esporangiosporas que salen por una rotura de la pared; c, esporangióforo; d, rizoides (elementos de fijación).

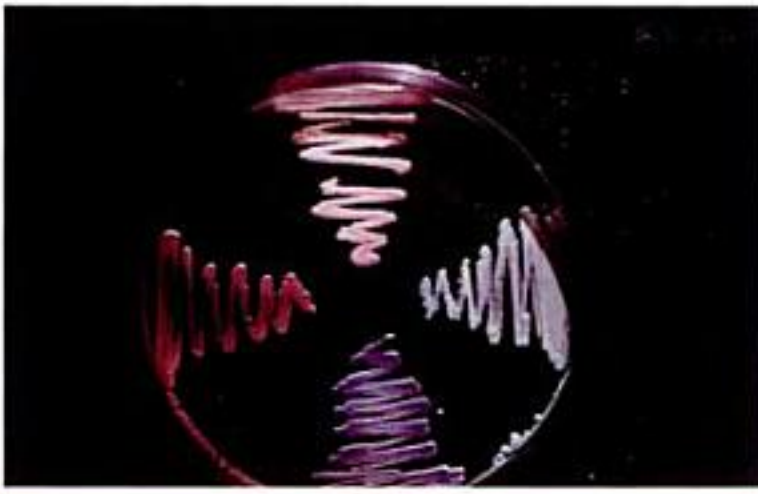


Fig. 9-4. Colonias de especies de *Candida*, sembradas en CROMagar®.

Los conidios se originan en porciones no diferenciadas del talo unicelular o del micelio, o pueden formarse en hifas fértiles llamadas **esporóforos** (fig. 9-3). Estos últimos pueden ser **simples** o **ramificados**; las ramificaciones más distales de los esporóforos reciben el nombre de esterigmas. Los hongos de talo unicelular suelen reproducirse por la emisión de brotes que se denominan blastoconidios y son ejemplos típicos de esporas blásticas porque dan origen a nuevas células (fig. 9-2). En los hongos miceliales algunas hifas se segmentan en porciones cilíndricas que se separan entre sí para formar **artroconidios**. Estas esporas son típicamente árticas, es decir, formadas a partir de células preexistentes.

Los **conidios** reciben diversos nombres de acuerdo con las características que presentan: por su tamaño se los divide en **macroconidios** y **microconidios**; por la presencia de tabiques se los conoce como **amerosporas** (sin tabiques), **didi-**

mosporas (un tabique), **fragmosporas** (varios tabiques transversales) y **dictiosporas** (tabiques transversales y longitudinales); y de acuerdo con su color se dice que las esporas son **hialinas** o **pigmentadas** y las que poseen colores oscuros se denominan **feosporas**.

Por su mecanismo de producción por parte de la hifa fértil se distinguen siete tipos de conidios: los **blastoconidios** y los **artroconidios** ya han sido explicados. Las **simpodulosporas** son conidios originados por brotación del **esporóforo**, pero este último sigue creciendo y dando origen a otros conidios, lo que le confiere un aspecto de ciempiés. Las **fialosporas** se originan por brotación de la parte interna de la pared celular de la célula conidiógena (conidio enteroblástico) y el esporóforo tiene forma de florero. Las **anelosporas** son conidios brotantes que germinan a través de la cicatriz en forma de anillo dejada por el conidio precedente. Las **porosporas** son dictiosporas que se producen a través de un poro existente en la célula conidiógena. Finalmente, las **aleuriosporas** se producen por simple ensanchamiento del extremo distal de la hifa fértil y se separan de ésta por un tabique; pueden ser **microaleuriosporas** o **macroaleuriosporas**, con tabiques o sin ellos.

Los esporóforos se disponen aisladamente o asociados en forma de hifas paralelas con aspecto de cuerdas, que reciben el nombre de **coremios**, o en empalizadas que se llaman **esporodoquios** o **acérvulos**. Estos últimos pueden disponerse en el interior de un fruto con pared plectenquimatosa formando los **picnidios**. Estas formaciones llegan a medir 1 mm de diámetro, el plecténquima suele tener colores oscuros y las esporas que origina, lla-



Fig. 9-5. Desarrollo de un hongo filamentoso en agar miel con antibiótico.

Cuadro 9-7. Clasificación de los hongos de importancia médica

Reino: Fungi Subdivisiones	Clase	Características principales	Ejemplos
1. Zygomycotina	<i>Zygomycetes</i>	Micelio cenocítico, reproducción sexual por zigotes, asexual por conidios o esporangiosporas. Principalmente terrestres, parásitos de las plantas y de los animales	<i>Absidia</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Basidiobolus</i>
2. Ascomycotina Producen ascos con ascosporas como reproducción sexual	a) <i>Hemiascomycetes</i>	Sin ascocarpo, unicelulares o filamentosos	<i>Saccharomyces</i>
	b) <i>Archiascomycetes</i>	Estructuras tipo quiste y tróficas. Asexual: fisión binaria. Sexual: cigoto con compartimentalización de esporas en el interior del quiste	<i>Pneumocystis jiroveci</i> (ex <i>P. carinii</i>)
	c) <i>Plectomycetes</i>	Forman cleistotecios con ascosporas sin tabiques	<i>Ajellomyces</i> , <i>Arthroderma</i> , <i>Pseudallescheria</i>
	d) <i>Pyrenomycetes</i>	Forman peritecios (ascocarpos piriformes)	
	e) <i>Dyscomycetes</i>	Forman apotecios (ascocarpos aplanados)	<i>Piedraia</i>
	f) <i>Loculoascomycetes</i>	Ascocarpo en ascostroma	
3. Basidiomycotina Producen basidios con basiosporas como reproducción sexual	a) <i>Teliomycetes</i>	Unicelulares o de micelio tabicado con anastomosis en hebilla sin basidiocarpo	<i>Filobasidiella</i>
	b) <i>Hymenomycetes</i>	Ambos con basidiocarpo	No tienen interés médico
	c) <i>Gasteromycetes</i>		
4. Deuteromycotina (<i>Fungi imperfecti</i>) Carecen de reproducción sexual conocida	a) <i>Blastomycetes</i>	Hongos no sexuales, unicelulares o filamentosos; producen pseudomicelio y se multiplican por blastoconidios	<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> ,
	b) <i>Coelomycetes</i>	Producen conidios a partir de esporóforos en empalizada. Originan picnidios o acérvulos	<i>Pyrenochaeta</i> , <i>Phoma</i>
	c) <i>Hyphomycetes</i>	Sin picnidios ni acérvulos. Hifas y esporóforos aislados	<i>Acremonium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Paracoccidioides</i> , <i>Coccidioides</i> y muchos otros géneros de interés médico

madras **piconsporas**, son pequeñas y de aspecto baciliforme.

Otro ejemplo de esporas asexuadas internas está dado por las **esporangiosporas** que se producen dentro de la porción distal globulosa y dilatada de una hifa continua. La pared de esta estructura esférica, llamada **esporangio**, es la continuación de la pared celular de la hifa fértil y contiene una gran cantidad de esporas inmóviles. La hifa fértil recibe el nombre de esporangióforo y emite una prolongación dentro del esporangio llamada **columela**.

Hay hongos unicelulares que cuando llegan a la madurez, producen numerosas esporas asexuadas

en su interior y forman **esporangios holocárpicos** (todo el talo se transforma en fruto).

Las esporas sexuales se producen después de la copulación de células aisladas o de hifas. En el primer caso las células emiten un tubo copulador, se fusionan, se produce una plasmogamia y más tarde una cariogamia, presentan un corto período diploide llamado dicaríofase y, finalmente, ocurre la meiosis con la formación de esporas sexuales internas o **ascosporas**, contenidas por las paredes celulares de los elementos que iniciaron la copulación. El número de estas esporas es siempre dos o múltiplo de dos; las células que las contienen reciben el nombre de **ascos** y se disponen aisladamente.

En los hongos miceliales los ascos y las ascosporas se encuentran protegidos por formaciones plectenquimatosas de aspectos variables llamadas **ascocarpos**. Los ascocarpos cerrados, con ascos globulosos irregularmente distribuidos en su interior, reciben el nombre de **cleistotecios** y son los que se observan con mayor frecuencia en los hongos de interés médico. Los **peritecios** son frutos piriformes con una apertura llamada ostíolo y ascos claviformes con ocho ascosporas que se disponen sobre una capa fértil. Los **apotecios** poseen una estructura semejante a la anterior pero aplanada en forma de copa de champaña y abierta.

Los hongos de micelio cenocítico se unen en forma sexuada por medio de hifas especiales, y producen esporas sexuadas grandes y multinucleadas denominadas **zigotes**. Éstos pueden originarse por la unión de dos hifas del mismo talo (homotálicos) o de talos diferentes (heterotálicos). A veces los zigotes están envueltos por hifas protectoras.

Las **esporas sexuadas externas** llamadas **basidiosporas** nacen de células dilatadas en forma de maza conocidas como basidios. En los basidios tiene lugar la cariogamia, la meiosis y la formación

de cuatro núcleos hijos, los que luego migran al extremo distal para dar origen a las basidiosporas que se producen por brotación (cuadro 9-6).

Los hongos pueden ser clasificados sobre la base del reconocimiento de estas células y estructuras fundamentales. En primer término se tiene en cuenta la fructificación sexuada, luego la producción de esporas asexuadas, y finalmente las características del talo y micelio. En los hongos unicelulares, no pueden encontrarse diferencias sustanciales en el morfología y se recurre a un mayor número de pruebas bioquímicas para identificarlos.

En los laboratorios de diagnóstico clínico, en general no se detectan los frutos sexuados o la forma sexuada de los hongos.

En las últimas décadas la biología molecular permitió agrupar los hongos de acuerdo al DNA y establecer relaciones filogenéticas que ayudaron a ubicar taxonómicamente aún a hongos incultivables como el *Pneumocystis jiroveci*. El reino *Fungi* se divide en subdivisiones: *Zygomycotina*, *Ascomycotina*, *Basidiomycotina* y *Deuteromycotina* o *Fungi imperfecti*.

La ubicación taxonómica de los hongos de interés médico se resume en el cuadro 9-7.

Problema 9-1

En la toma de una muestra de una úlcera bucal, el examen microscópico directo acusó la presencia de hifas sin tabique y sus cultivos presentaron el desarrollo de un hongo micelial que produjo esporangios.

Preguntas:

1. ¿Cuál es el nombre utilizado para designar al micelio que carece de tabiques?
2. ¿Por qué será un esporangio?
3. ¿A qué división del reino *Fungi* pertenece el hongo aislado?
4. ¿Qué se debió agregar al medio de cultivo para que desarrolle sólo el hongo?
5. ¿En qué lapso debió haber desarrollado?

METABOLISMO FÚNGICO. ACCIONES PATÓGENAS DE LOS HONGOS

Ricardo Negroni

Contenidos

Mecanismos de acción patógena de los hongos.

Objetivos

- Describir el tipo de metabolismo de los hongos.
- Establecer las condiciones de cultivo.
- Citar las condiciones atmosféricas para el desarrollo de los hongos.
- Relacionar la fisiología con la morfogénesis de los hongos.
- Enumerar los tipos de acciones patógenas de los hongos.

Los hongos, que son microorganismos heterótrofos, aerobios o microaerobios, capaces de desarrollar en una amplia gama de sustratos de los cuales obtienen los nutrientes útiles merced a sus enzimas hidrolíticas, pueden crecer en una amplia gama de temperaturas (entre 5 y 45 °C) y pH (de 2 a 8); sin embargo, el crecimiento óptimo de la mayor parte de estos hongos se produce entre los 20 y los 38 °C y a un pH de 5,6 a 7,2.

Los medios de cultivo para estos microorganismos deben contener básicamente agua, sales, una fuente de nitrógeno y una fuente de carbono. El aporte de nitrógeno se obtiene a partir de nitratos, sales de amonio, aminoácidos o proteínas. Los minerales más importantes para el metabolismo fúngico son los fosfatos de sodio y potasio, el sulfato ferroso, los sulfatos de amonio y de magnesio, y el cloruro de sodio. Las fuentes de carbono pueden ser polisacáridos, disacáridos, monosacáridos o alcoholes.

La metabolización de las fuentes de carbono se lleva a cabo siguiendo dos vías principales: la oxidación, que tiene lugar en condiciones de aerobiosis estricta y genera dióxido de carbono y agua como productos finales, y la fermentación, que se produce mejor en condiciones microaerófilas y determina la producción de ácidos y alcoholes.

Cuando se usan medios con el fin de diagnosticar supuestas micosis, se utiliza algún medio que contenga los elementos antes citados al que se le agrega solución de antibióticos. Para esto se funde el medio, luego se entibia a 45 °C y se incorpora

el antimicrobiano. Puede preparárselos con gentamicina (5 a 100 mg/mL) o con cloranfenicol (16 mg/mL). Así se transforman en medios selectivos para hongos, por evitar el desarrollo bacteriano. Si desea prevenirse la contaminación con hongos ambientales, puede agregárseles además cicloheximida, 0,5 mg/mL.

Es posible agregar estas drogas en las mismas concentraciones a los líquidos en los que se introducen muestras para diagnóstico de micosis también con la finalidad de evitar la contaminación por bacterias.

Se ha comprobado una estrecha correlación entre la fisiología condicionada por las características del medio (nutrientes, temperatura, humedad y pH) y la morfogénesis. Por lo tanto, el dimorfismo fúngico puede ser obtenido *in vitro* cambiando las condiciones de cultivo. Así, cuando ciertos hongos dimorfos se incuban a temperaturas de 35 a 37 °C, con 5 a 10% de CO₂ y en medios que contienen monosacáridos o disacáridos como fuentes de carbono y proteínas con aminoácidos ricos en uniones disulfuro como la cisteína, se produce la fase de talo unicelular brotante.

El pleomorfismo es otro fenómeno interesante caracterizado por la producción de un micelio algodonoso y abundante que pierde totalmente la capacidad de producir esporas. Esta degradación fúngica se produce en medios ricos en monosacáridos o disacáridos cuando los microorganismos han sido cultivados en estos sustratos por mucho tiempo.

El examen microscópico de los hongos ofrece menos dificultades que el de las bacterias debido a su mayor tamaño. Sin embargo, salvo *Candida*, que puede colorearse con la técnica de Gram, se requiere otro tipo de preparados. Los hongos unicelulares se visualizan en fresco, coloreados con azul de metileno, con Giemsa (véase cap. 32) o por contraste con tinta china. La visualización de los pluricelulares requiere la utilización de técnicas por disociación (separar bien las hifas) en una gota de algún líquido (de montar o azul cotton lactofenol) que tenga la capacidad de extraer el aire del micelio, ya que éste impediría su observación.

MECANISMOS DE ACCIÓN PATÓGENA DE LOS HONGOS

Los *Eumycota* desarrollan su acción patógena para el hombre y los animales por tres mecanismos principales: 1) invasión y proliferación en los tejidos, con la producción de una respuesta inmune específica frente a los antígenos fúngicos, 2) liberación de toxinas y 3) sensibilización, con desarrollo de una respuesta alérgica frente a los antígenos de hongos saprobios o comensales del hombre.

La liberación de toxinas es el mecanismo más importante entre los hongos de interés en toxicología. Entre los ejemplos más conocidos se encuentra el consumo de *Basidiomycotina* como alimento; los integrantes del género *Amanita* producen hepatotoxinas y neurotoxinas potencialmente mortales y otras especies de este género, así como de

otros géneros vecinos (*Lactarius*, *Boletus*, *Psilocybe*, etc.), suelen ocasionar alteraciones gastrointestinales. Los síntomas de enfermedad producidos por la ingestión de estos hongos superiores se conocen con el nombre de **micetismo** (cuadro 9-8).

Los integrantes de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* suelen contaminar los cereales y liberar sus toxinas en ellos. El consumo de una cantidad significativa de alimentos enmohecidos por estos microorganismos ocasiona síntomas de intoxicación conocidos como **micotoxicosis**. En Europa a principios del siglo pasado, se observó la aparición de una enfermedad hemorrágica que cursaba con leucopenia, conocida como aleucia alimentaria tóxica, debida a tricotecenos, toxinas producidas por especies de *Fusarium* y con menor frecuencia por *Aspergillus* y *Penicillium*. Desde la década de 1960 se observa la acción de las toxinas que generan *Aspergillus flavus* y *Penicillium puberulum* cuando contaminan productos oleaginosos o tortas de cereales. Estas sustancias conocidas como aflatoxinas son capaces de inducir la producción de hepatomas primitivos en aves y en mamíferos jóvenes. El **ergotismo** es la intoxicación ocasionada por la ingestión de centeno contaminado con *Claviceps purpuria*, un hongo tóxico cuyos esclerotes invaden los granos de este cereal (cuadro 9-8).

Los hongos del género *Aspergillus* pueden actuar como patógenos mediante los tres mecanismos principales que se han mencionado, vale decir, proliferan en los tejidos que invaden,

Cuadro 9-8. *Mecanismos de acción patógena de los hongos*

Invasión y proliferación con respuesta inmune	MICOSIS	Superficiales Subcutáneas y localmente invasivas Profundas o sistémicas Endémicas Oportunistas
Por liberación de toxinas	Micetismo Micotoxicosis y ergotismo	Por ingestión de hongos tóxicos (<i>Basidiomycotina</i>) Intoxicaciones por cereales contaminados con aflatoxina o esclerotes de <i>Claviceps purpurea</i>
Sensibilización con respuesta alérgica		Son varios los agentes, entre ellos puede citarse <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i>
Por los tres mecanismos		El género <i>Aspergillus</i> puede provocar alteraciones por los tres mecanismos

mediante sus antígenos despiertan una respuesta inmune específica que ocasiona necrosis e inflamación (y además liberan toxinas que poseen un comportamiento similar a las exotoxinas de las bacterias y ocasionan necrosis de los tejidos, fibrinólisis y hemólisis) y en las personas atópicas (véase cap. 16) provocan la sensibilización a sus antígenos, lo que da origen a reacciones alérgicas respiratorias y, finalmente, como ya se ha señalado, pueden ocasionar micotoxicosis. Aunque con menor frecuencia, los integrantes del género *Fusarium* son capaces de actuar en forma semejante.

Algunos hongos potencialmente patógenos son integrantes de la biota normal del organismo humano, como sucede con ciertas especies del género *Candida* en la superficie de las mucosas orofaríngea y vaginal, y en menor proporción en la piel o con *Malassezia spp.* en la piel de las zonas seboreicas del cuerpo. También hay ciertas bacterias del orden *Actinomycetales* que se encuentran como comensales del organismo humano y de animales; éstas son especies de géneros microaerófilos como *Actinomyces* y *Arachnia*, habitantes asiduos del biofilm dental, las criptas amigdalinas (véanse caps. 18 y 21) o intestinales y la mucosa cervicovaginal.

Otros micromicetos que integran la población de los microorganismos del suelo, cuyas esporas pasan al aire, suelen depositarse en la piel o sobre las membranas mucosas y pueden formar parte de la biota transitoria del organismo humano.

Estos agentes rara vez provocan enfermedades y, cuando lo hacen, puede deberse a las siguientes razones: 1) su proliferación excesiva a causa de una modificación del ecosistema, por ejemplo la eliminación de las bacterias intestinales competidoras que origina candidiasis digestiva en las personas que reciben antibióticos de amplio espectro, 2) la interrupción de la barrera anatómica que implica la integridad del revestimiento cutáneo-mucoso del organismo en caso de canalizaciones venosas, intervenciones quirúrgicas, colocación de sondas y exploraciones instrumentales, y 3) la depresión de los mecanismos inmunes normales por la acción de enfermedades inmunosupresoras, como el SIDA, afecciones por autoinmunidad, leucemia, linfomas, etc., o por drogas como los corticosteroides y los agentes citotóxicos e inmunosupresores.

Los hongos que actúan mediante la invasión de los tejidos y su proliferación en ellos ocasionan infecciones que habitualmente se dividen en **micosis superficiales y profundas**, pero pueden agregarse las subcutáneas y localmente invasivas. Las micosis superficiales son muy frecuentes en

todo el mundo, afectan a más del 20% de la población general; se contagian de persona a persona o de animales a personas. Por el contrario, las micosis profundas son menos comunes, representan enfermedades más graves y no se transmiten de persona a persona ni de animales a seres humanos (cuadro 9-8).

En las micosis superficiales los microorganismos invasores sólo proliferan en la capa córnea de la piel o sus faneras (pelos y uñas) y en la superficie de las mucosas. Los antígenos de estos hongos son captados por las células presentadoras intraepidérmicas (células de Langerhans), que informan sobre su presencia a otras células existentes en los órganos linfáticos; de esa forma, se origina una respuesta inmune específica cuya consecuencia final consiste por una parte en la limitación de la invasión y por la otra en la producción de una reacción inflamatoria de intensidad variable (véanse caps. 14 y 15). En algunas micosis superficiales la inflamación es escasa o casi inexistente, como sucede en la tiña negra, la pitiriasis versicolor, las piedras, el eritrasma y la tricomicosis.

Las dermatofitosis son micosis superficiales producidas por dermatófitos. Estos hongos queratófilos provocan una respuesta inflamatoria más marcada, con eritema, microvesículas, escamas y más raras veces pústulas y costras. El mecanismo patogénico es mediado por linfocitos T, en especial por linfocitos CD4+, y es idéntico al del eccema por contacto. Cuando estos hongos invaden los folículos pilosos, la reacción inflamatoria habitualmente es más marcada todavía y ocasiona la aparición de nódulos y abscesos. Estas enfermedades no son abordadas en este texto, pues no presentan manifestaciones en la boca, como es de suponer.

Los hongos del género *Candida* pueden provocar tanto micosis superficiales como profundas. En las primeras estos microorganismos poseen una capacidad variable de adherirse a las células epiteliales de la mucosa y de la piel, y esta adhesión será tanto más intensa y más rápida cuanto mayor sea el poder patógeno de la especie. Las candidas suelen unirse a ciertos receptores de la pared celular de los epitelios a través de los tubos germinativos o las pseudohifas. La secreción de sustancias, tales como las adhesinas, favorece esta unión. En la mucosa estos microorganismos provocan una reacción inflamatoria con desprendimiento de células epiteliales y exudación leucocitaria y de proteínas plasmáticas que conduce a la formación de zonas erosivas cubiertas por pseudomembranas blanquecinas, y en la piel ocasionan desprendimiento epidérmico, eritema y vesículas por medio de un mecanismo similar al explicado para los dermatófitos.

Las micosis profundas debidas a *Candida* se originan en alteraciones de los mecanismos de defensa producidas por modificaciones del ecosistema, la interrupción de la barrera cutaneomucosa y la falla de los sistemas defensivos celulares o humorales. La proliferación exagerada de *Candida* en la luz intestinal puede dar origen al pasaje de blastoconidios, a través de los espacios intercelulares de la pared intestinal, hacia los ganglios linfáticos mesentéricos y luego al torrente sanguíneo. La invasión del sistema circulatorio también puede producirse en asociación con actos quirúrgicos o la contaminación de los catéteres. Una vez que estos microorganismos alcanzan la circulación sólo podrán proliferar si falla la fagocitosis a cargo de los polimorfonucleares neutrófilos y de los macrófagos circulantes (véase cap. 14).

Existe un grupo de **micosis sistémicas endémicas** que presentan grandes similitudes en su patogenia. Los agentes etiológicos de estos procesos son hongos geófilos que requieren la existencia de cierto ecosistema adecuado para su subsistencia y, por lo tanto, varias de estas afecciones presentan una distribución geográfica limitada. Estos microorganismos originan esporas que pasan al aire y su penetración en el organismo humano o animal se produce por inhalación. Debido a su pequeño tamaño estas esporas llegan al alvéolo pulmonar, donde son fagocitadas por los macrófagos del revestimiento alveolar. Estas células son incapaces de lisar las esporas, las que adquieren la forma en que se reproducen en los tejidos (la mayor parte de los agentes causales son dimorfos) y mediante su proliferación invaden las células vecinas. Más tarde se propagan por vía linfática y luego hemática, y dan origen a una infección sistémica. En un principio la respuesta inflamatoria es inespecífica y está constituida por leucocitos, neutrófilos, linfocitos y macrófagos no activados. Después de la tercera semana de producida la infección la reacción inflamatoria tiende a inducir granulomas epitelioides semejantes a los observados en la tuberculosis. Este tipo de respuesta es muy eficaz, destruye gran cantidad de microorganismos, evita en gran parte la progresión de la infección y, en la mayoría de los casos, conduce a la cicatrización fibrosa de las lesiones y a la curación de la micosis. En el hospedador normal la infección primaria suele ser de curso benigno y cura en forma espontánea. Cuando existen fallas de la inmunidad mediada por células la primoinfección no cura, la micosis se torna progresiva y su curso puede ser fatal en una alta proporción de los casos que no reciben tratamientos adecuados. Las micosis sistémicas progresivas también pueden originarse en la reactivación de focos quiescentes que quedaron de la infección primaria.

Este modelo de patogenia se observa en las infecciones producidas por *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* y *Paracoccidioides brasiliensis*.

Cryptococcus neoformans muestra una patogenia similar pero debido a que su distribución geográfica es universal y a que el desarrollo de la enfermedad progresiva es desencadenado con mayor frecuencia que en las otras micosis sistémicas endémicas por fallas inmunológicas graves y más fáciles de identificar, tales como el uso de altas dosis de corticosteroides, el tratamiento con drogas citostáticas, el SIDA, etc. (en estos casos se comporta como micosis oportunista), la criptocosis habitualmente es separada de este grupo. Algunas de estas micosis presentan manifestaciones bucales y se describen en el capítulo 24.

Los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* o al orden *Mucorales* poseen esporas que contaminan el aire de diversas partes del mundo. Las esporas inhaladas habitualmente llegan al alvéolo y son fagocitadas y lisadas por los macrófagos alveolares. Si llegan a germinar, las hifas son destruidas por los neutrófilos de los capilares sanguíneos. Por esta razón sólo pueden proliferar en el interior de cavidades pulmonares revestidas por epitelio o cuando hay fallas graves de la fagocitosis como sucede en los pacientes con neutropenia, enfermedad granulomatosa crónica o cetoacidosis diabética (**micosis oportunista**).

Suele llamarse **micosis subcutáneas y localmente invasivas** a un grupo de infecciones fúngicas producidas por la penetración de los agentes causales a través de la piel o la mucosa. Estos micromicetos que proliferan principalmente en forma local invaden la dermis, el tejido celular subcutáneo, los músculos y más raras veces los huesos y las articulaciones. Algunas de estas infecciones, que a veces se propagan por vía linfática y con mucha menor frecuencia aún a través del torrente sanguíneo, dan origen a una respuesta inflamatoria bastante intensa con la producción de una zona central supurativa, un área media epitelioides con macrófagos activados, células gigantes, linfocitos y plasmocitos, y una parte externa con fibrosis colágena. A este grupo de micosis pertenecen la rinosporidiosis, la cromomicosis, la lobomycosis, la esporotricosis, los micetomas y la feohiomycosis subcutánea.

En las personas atópicas los hongos contaminantes del aire y los alimentos pueden despertar **reacciones alérgicas por hipersensibilidad de tipo I mediada por IgE**. Estas reacciones suelen dar origen a cuadros de rinitis, sinusitis, asma bronquial, enfermedad broncopulmonar alérgica y diarrea (véase cap. 16).

Resumen

En la actualidad los hongos se ubican en el reino *Fungi* que incluye microorganismos unicelulares o pluricelulares eucariotas carentes de tejidos y de tamaños y formas variados que tienen su hábitat fundamentalmente en la tierra y los vegetales, sobre todo en lugares húmedos. Muchos de ellos ejercen efectos beneficiosos, pero hay otros que producen enfermedades, las que fueron descubiertas en el siglo pasado.

Los hongos verdaderos o *Eumycota* poseen una pared compuesta por quitina, glucanos, mananos y proteínas, y sus células muestran diversos orgánulos. En los hongos se distingue el talo o micelio vegetativo y en los pluricelulares existe además el micelio de fructificación.

La reproducción de los hongos tiene lugar por medio de esporas (células uninucleadas o multinucleadas) que pueden ser asexuadas y sexuadas, y que reciben distintos nombres según su forma, tamaño, ubicación y origen.

Algunos hongos presentan elementos especiales de resistencia u otros que cumplen otras funciones.

Ciertos hongos tienen la capacidad de cambiar de morfología (dimorfismo) según el medio en el que se encuentren. Esto se evidencia en patógenos como *Candida*, *H. capsulatum*, *P. brasiliensis*, etcétera.

Los hongos son heterótrofos, aerobios o microaerófilos y se desarrollan en medios artificiales a temperaturas de entre 5 y 45 °C con un pH de 2 a 8. Requieren agua, sales, fuente de N y fuente de C para su desarrollo que, en general, es más lento que el de las bacterias.

El examen microscópico de los hongos filamentosos exige técnicas especiales.

Hay hongos filamentosos o pluricelulares que en ciertos cultivos no dan esporas; se dice que se pleomorfizan; sólo se ven micelios sin fructificación.

La clasificación de los hongos tiene en cuenta el tipo de elementos de reproducción (véase cuadro 9-7).

Estos agentes patógenos causan alteraciones por tres mecanismos:

- 1) Invasión y proliferación en los tejidos con respuesta inmune.
- 2) Liberación de toxinas.
- 3) Sensibilización con desarrollo de una respuesta alérgica (cuadro 9-8).

Hay hongos que integran la biota normal y generan enfermedades endógenas, mientras que en otros casos la infección proviene del medio, vale decir que es exógena.

Según la localización y los tejidos afectados las micosis pueden ser superficiales (de la piel, los pelos, las uñas, la mucosa y la semimucosa) o profundas (porque afectan distintos órganos o sistemas); dentro de estas últimas se encuentran las endémicas.

Existen micosis subcutáneas, que son aquellas en las que los microorganismos atraviesan la piel o las mucosas y, aunque se mantienen localizados en una parte del organismo, invaden en profundidad la dermis, el tejido celular subcutáneo, los músculos y en ocasiones el hueso.

Hay un grupo de micosis producidas por hongos saprófitos que sólo causan patología en organismos debilitados; éstas son las micosis oportunistas.

Para finalizar podemos agregar que hay hongos ambientales que estimulan reacciones alérgicas en las personas atópicas.

Preguntas de revisión

1. ¿A qué reino pertenecen los hongos?
2. ¿Qué características de los *Eumycota* puede señalar?
3. ¿Qué detalles de la célula fúngica puede enumerar?
4. Según el número de células, ¿qué tipo de hongos conoce?
5. En el caso de los hongos pluricelulares ¿qué dos tipos de micelio (según su función) puede citar?
6. ¿Cómo se forma un seudomicelio o pseudofilamento y por qué?
7. ¿Qué tipos de esporas conoce?
8. ¿Qué subdivisiones comprenden los *Eumycota*?
9. ¿Qué tipo de metabolismo tienen los hongos?
10. ¿Cómo se logra cultivarlos in vitro y obtener el dimorfismo?
11. ¿Cómo se llaman las enfermedades debidas a hongos y qué tipos puede mencionar?
12. ¿Cuáles son las fuentes de infección en los distintos tipos de micosis?
13. ¿Por qué se produce el dimorfismo en algunos hongos?

BIBLIOGRAFÍA

Arenas R. Micología médica ilustrada. 2ª ed. México: Interamericana-McGraw-Hill, 2003; pp. 3-58.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Clasificación, estructura y replicación de los hongos. En: Microbiología médica. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006; pp. 67-73.

Negrón R. Capítulo 8: Hongos: Generalidades. En: Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 57-69.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Chapter 4: Functional anatomy of prokaryotic and eukaryotic cells. In: Microbiology. An introduction. 8th ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2004; pp. 75-104.

SECCIÓN 4

Parasitología

10

PARÁSITOS: GENERALIDADES

Marta Negroni

Contenidos

Definición. Asociaciones biológicas. Tipos de parasitismo. Ciclo biológico. Ectoparásitos y endoparásitos. Tipos de hospedadores. Características de las parasitosis. Métodos de diagnóstico de las parasitosis. Protozoos. Sarcodina. *Mastigophora*. *Ciliata* o *Ciliophora*. *Phylum* apicomplexa: esporozoos. Microspora. Parásitos pluricelulares o metazoos. Artrópodos. Medidas preventivas.

Objetivos

- Definir parasitismo.
- Enumerar los distintos tipos de asociaciones biológicas.
- Clasificar los organismos que se incluyen dentro de los parásitos.
- Enumerar las características generales de los protozoos.
- Resumir las características más importantes de los grupos que se ubican dentro de los protozoos. Mencionar un ejemplo de cada uno.
- Enumerar características de los metazoarios.

DEFINICIÓN

En el sentido estricto de la palabra, parásito significa organismo vivo que se nutre y vive a expensas de otro, en general de organización superior. El término proviene del latín y éste a su vez del griego “**para**”, al lado, y “**sitos**”, comida.

Se ha dicho que los virus son parásitos intracelulares estrictos. De los hongos, cuando están dentro del organismo, también se dice que son parásitos o se comportan como tales.

Desde el punto de vista puramente microbiológico, los **parásitos** son microorganismos unicelulares o pluricelulares que viven a expensas de otro ser, en general de organización superior. La mayoría de ellos necesitan de organismos específicos, no son capaces de invadir cualquier ser. El que alberga al parásito se lo conoce como **hospedador**, **hospedero** o **anfitrión**. Sin embargo, existen asociaciones entre organismos con un grado de organización similar.

Los seres unicelulares pertenecen, como otros parásitos, al Dominio *Eukarya*, subreino *Protozoos* o *Protozos* (véase cuadro 10-1).

Entre los parásitos de interés médico también hay organismos pluricelulares; son los **helmintos** y los **artrópodos**, pertenecientes al reino **Animalia** del mismo Dominio (véase cuadro 10-2).

Asociaciones biológicas

Las asociaciones que se establecen entre dos seres vivos son de distinta índole.

Simbiosis

La simbiosis es la asociación biológica en la que los dos miembros se benefician mutuamente, como por ejemplo los hongos y las algas que constituyen los líquenes, u otras asociaciones que se establecen en el tubo digestivo de los animales entre las bacterias y los protozoos. Los seres que establecen una asociación simbiótica no pueden vivir de otra forma.

Mutualismo

El término “mutualismo” alude a una asociación en la que ambas partes se benefician sin que su

Cuadro 10-1. Dominio Eukarya reino Protista

<i>Protozoa</i>	<i>Sarcomastigophora</i>	<i>Mastigophora</i> , con flagelo	<i>T. vaginalis</i>
		<i>Sarcodina</i> , con movimientos ameboides	<i>E. gingivalis</i>
	<i>Apicomplexa</i>	<i>Sporozoa</i> , inmóviles	<i>Plasmodium, Toxoplasma</i>
	<i>Ciliophora</i>	Se mueven por medio de cilios	<i>Balantidium coli</i>
	<i>Microspora</i>	Presentan esporas	

unión sea indispensable para la subsistencia. Un ejemplo de mutualismo está dado por las termitas que en su intestino llevan parásitos que les permiten degradar la madera.

Comensalismo

Se habla de comensalismo cuando un organismo se nutre de otro pero no le provoca trastornos. En esta asociación sólo el comensal se beneficia. Esto es típico de *Entamoeba coli*, un microorganismo que parasita el intestino humano.

La diferencia entre **saprófito** y **parásito** reside en que los primeros se nutren de sustancia orgánica muerta o en descomposición, así que no provocan daño, pero de acuerdo con la definición no son parásitos. No obstante, muchos patógenos humanos pueden alternar entre ambas situaciones.

En el parasitismo propiamente dicho, que se encuadra dentro de la definición dada, en general hay un perjuicio o acción patógena para el hospedero o anfitrión.

Tipos de parasitismo

Hay distintos grados de parasitismo y se habla de:

1. **Parásito obligado.** Aquel que no puede subsistir sino con el auxilio de uno o más hospedantes, en estos casos se distingue entre:
 - Parásito obligado permanente.* Es el parásito que debe realizar todo su ciclo en otro organismo.
 - Parásito obligado temporario.* Es el que acude al hospedero sólo en el momento de alimentarse

y alterna este estadio con períodos de vida libre, como por ejemplo los *artrópodos hematófagos*. **Parásito obligado periódico.** Es el que reside en el hospedante durante un solo ciclo de su desarrollo. Las etapas larvarias de las moscas productoras de **miasis** representan un ejemplo de este tipo de parasitismo.

2. **Parásito facultativo.** Es aquel que puede desarrollar el ciclo nutriéndose a expensas de un organismo superior o no; algunas larvas de moscas también constituyen un ejemplo de parasitismo facultativo.

Se han propuesto otras clasificaciones de acuerdo con otros comportamientos biológicos; se ha considerado la especificidad del hospedador, el tipo de alimento, etc.

Ciclo biológico

El ciclo biológico es la sucesión de estadios o mudas que permiten que un parásito llegue a un hospedador, se multiplique en él y alcance su forma infectante, con el fin de perpetuarse.

Si el parásito desarrolla todo su ciclo en un solo hospedero, es de **evolución directa**, es decir que tiene un **ciclo monoxénico**; cuando requiere más de un hospedero es de **evolución indirecta**, o sea que tiene un **ciclo heteroxénico**.

Ectoparásitos y endoparásitos

Los **ectoparásitos** son los que se ubican en la superficie del hospedante, como ocurre con los piojos (*Pediculidae*) y otros artrópodos, mientras

Cuadro 10-2. Dominio Eukarya reino Animalia

<i>Metazoa</i>	<i>Helmintos</i>	<i>Platelmintos</i> (<i>Cestodos</i> y <i>Trematodos</i>) <i>Nematelmintos</i> <i>Acantocephalo</i>	Gusanos aplanados, segmentados o no Gusanos cilíndricos
	<i>Artrópodos</i>	<i>Insecta</i> <i>Arácnida</i>	Cilíndricos con cabeza espinosa Con cabeza, tórax y abdomen Con cefalotórax y abdomen

que los **endoparásitos** son los que invaden distintos órganos o tejidos, como por ejemplo las tenias. Otros autores hablan de **histoparásitos**, los que se ubican en tejidos; **citoparásitos**, los que invaden células; mientras que los que parasitan en la sangre son los **hemoparásitos**.

Como los ectoparásitos se ubican fuera del organismo, se dice que causan una **infestación**. En cuanto a los endoparásitos, como invaden distintos órganos y tejidos provocan una **infección**.

Tipos de hospedadores

Los **hospederos, hospedadores u hospedantes, o anfitriones**, que pueden ser vertebrados o invertebrados, se diferencian de acuerdo con la etapa evolutiva del parásito que albergan.

Hospedador definitivo

El hospedero definitivo es el que alberga la etapa adulta del parásito o aquel en el que el parásito desarrolla su ciclo de reproducción sexual.

Hospedador intermedio

El hospedero es intermedio cuando el ciclo asexual del parásito se produce en él; en general, se trata de etapas larvarias.

Hospedador paraténico

Los anfitriones paraténicos, en realidad, son **hospedadores accidentales**, en los que el parásito no experimenta ninguna evolución pero se mantiene vital para luego poder acceder al hospedero definitivo normal. Estos hospederos son muy importantes en la epidemiología de estas enfermedades.

Hospedador normal

Los hospederos normales son aquellos hospedantes intermediarios o definitivos en los que los parásitos evolucionan de una etapa del ciclo a otra.

Hospedador vicariante

El hospedero vicariante es un hospedante no habitual para determinado parásito, pero que podría comportarse como normal o habitual.

Características de las parasitosis

Las enfermedades que causan estos agentes infecciosos se denominan **parasitosis** y en su

mayor parte son de evolución lenta, por lo que se dice que son **crónicas**.

Las **parasitosis**, en general, son más frecuentes en los países o en las zonas tropicales, especialmente en grupos de bajo nivel socioeconómico, pero también han aumentado algo en clases sociales medias debido a la epidemia de SIDA (véase cap. 25) y los tratamientos inmunosupresores (véase cap. 16).

Otro factor que incide en el aumento de las parasitosis es la mayor facilidad para viajar que tiene la población mundial en la actualidad y los desplazamientos a otros países por razones laborales. En comunidades cerradas como las guarderías pueden producirse brotes epidémicos. Se atribuye gran importancia futura a los cambios climatológicos.

Se llama **reservorios** a todos aquellos seres o lugares en los que pueda vivir y multiplicarse el parásito.

No siempre que entra un parásito en el organismo se produce la acción patógena o daño, que depende del parásito, del hospedero y del número de parásitos, al igual que en otras enfermedades.

Mecanismos de transmisión de las parasitosis

Las parasitosis pueden transmitirse por un **mecanismo directo** cuando hay contacto de persona a persona o de animal a persona, o bien, por un **mecanismo indirecto** cuando la transmisión tiene lugar a través de distintos vehículos, del agua, de los alimentos, etc. En estas circunstancias el vehículo es la **fuentes de infección**.

Fuente de infección

Se entiende por fuente de infección todas aquellas fuentes a partir de las cuales el hombre adquiere la enfermedad; entre ellas es posible citar agua, suelo y alimentos contaminados, insectos hematófagos, animales domésticos y silvestres que actúan como reservorios, otras personas y la ropa, que produce autoinfecciones o reinfecciones además de ser pasible de diseminarse a otros sujetos.

Vías de infección en las zooparasitosis

La más común es la vía **digestiva**. En esta vía intervienen diversos factores, como por ejemplo la higiene insuficiente de las manos y la ingestión de alimentos o de agua contaminados.

La vía respiratoria puede ser puerta de acceso para ciertos parásitos.

Otra vía de infección es la **inoculación** por parte de algún insecto **vector** o cuando el parásito puede

atravesar activamente la piel como ocurre con las uncinarias.

La **vía congénita** o trasplacentaria es cuando una madre infectada puede transmitir la parasitosis al feto a través de la placenta, como sucede con la toxoplasmosis.

La **vía transfusional** permite que los parásitos presentes en la sangre de un donante ingresen en otro huésped con la introducción de este fluido.

Las moscas depositan sus huevos en **cavidades preexistentes** (nasal, auditiva) y son causa de miasis (cap. 26).

Puede haber **transmisión sexual**, como por ejemplo en el caso de *Trichomona vaginalis*.

El mecanismo de **autoinoculación** (ano-mano-boca) también es importante para mantener ciertas parasitosis, por ejemplo la oxiuriasis.

Acciones patógenas de los parásitos

La **acción patógena** de los parásitos se debe a distintos mecanismos. Algunos parásitos ejercen una **acción mecánica** cuando obstruyen conductos naturales, como sucede en el intestino con un parásito grande como *Ascaris lumbricoides*. También hay una acción patógena conocida como **acción expoliatriz** (expoliar es despojar o quitar algo a alguien). Algunos parásitos producen pérdida de sangre. Esta acción expoliatriz puede ser directa, como en el caso de las uncinarias que producen pérdida de sangre, o bien, indirecta, como la que causan ciertos parásitos que conducen a un "síndrome de malabsorción", porque le quitan el alimento al hospedante, como por ejemplo *Diphyllobotrium latum* (organismo responsable de una teniasis transmitida por los peces).

La **acción traumática**, como la que ejercen los artrópodos hematófagos, tiene la particularidad que puede facilitar el ingreso de infecciones debidas a otros microorganismos.

La **acción tóxica** se debe a los metabolitos o enzimas que pueden producir los parásitos; por ejemplo: las garrapatas.

Entamoeba histolytica causa la lisis de las células epiteliales del intestino del anfitrión (**acción lítica**).

Muchos parásitos ejercen su acción patógena a través de más de un mecanismo y hay muchos que provocan alteraciones por **mecanismos inmunológicos**.

Vías de eliminación de los parásitos

El organismo infectado elimina parásitos por distintas vías; la vía más común de eliminación es a través de las heces; otros parásitos se eliminan por la orina, algunos con la expectoración, otros

con diversas secreciones y algunos no son eliminados sino traspasados de un hospedador a otro por distintos mecanismos, como por ejemplo el que realizan ciertos artrópodos.

El anfitrión u hospedador pone en juego diferentes mecanismos inmunológicos, algunos se reflejan en alteraciones de los tejidos al tratar de circunscribir el daño, como se verá en los capítulos 14, 15 y 16.

Métodos de diagnóstico de las parasitosis

El diagnóstico de las parasitosis puede establecerse por técnicas directas, que incluyen la visualización del parásito con el microscopio o a simple vista (macroscópicamente). En pocas ocasiones el diagnóstico se establece por medio de cultivos. También se dispone de técnicas diagnósticas indirectas, que consisten en detectar la respuesta del organismo mediante pruebas inmunológicas; se han incorporado técnicas de biología molecular (véanse caps. 28 y 31).

PROTOZOOS

Los protozoos (proto: primitivo, zoo: animal) son microorganismos **unicelulares con una gran variedad de formas** que son quimioheterótrofos, **eucariotas, aerobios, móviles o inmóviles** y poseen un diámetro que oscila entre 5 μm y 100 μm o más. **Pueden tener reproducción sexual o no**. Son eucariotas con un alto contenido de hidratos de carbono; poseen todas las estructuras características de esas células, aunque carecen de pared celular. Tienen una gruesa membrana citoplasmática que en ocasiones está rodeada por otras estructuras producto de la respuesta del hospedero. Presentan uno o dos núcleos, retículo endoplasmático (tanto liso como rugoso) y se visualizan vacuolas, aparato de Golgi, lisosomas, inclusiones y gránulos de secreción. Algunos protozoos móviles están dotados de apéndices de locomoción. Muchos de ellos incorporan sustancias sólidas; por el mecanismo de **fagocitosis** son **holozoicos**; también utilizan la **pinocitosis** (invaginaciones que permiten incorporar las partículas alimenticias, aún sólidas y hasta bacterias).

Algunos protozoos pueden comportarse como anaerobios, especialmente en el tubo digestivo, y en ese caso carecen de mitocondrias, pero ese tipo de metabolismo les asegura la energía necesaria para sus funciones biológicas.

Presentan una forma vegetativa llamada **trofozoito**; esta etapa del parásito es más vulnerable a las condiciones ambientales. Ciertos protozoos

pueden transformarse en formas **quísticas** como mecanismo defensivo. Estas formas, que se caracterizan por su mayor resistencia a los factores físico-químicos y presentan un metabolismo disminuido, por lo general son de configuración redonda u oval y están recubiertas por una gruesa envoltura (véase fig. 10-1A).

Los quistes pueden permanecer fuera del hospedero durante mucho tiempo. Se los encuentra en el suelo o formando parte de la microbiota de los animales. A este grupo pertenecen más de 40.000 especies, pero los protozoos que causan enfermedades humanas son pocos y entre ellos figuran los de mayor interés desde el punto de vista odontológico.

Como sucede con todas las ramas de la ciencia, la clasificación de estos microorganismos está en constante revisión y hay discrepancia entre los autores. Las clasificaciones más recientes se basan en estudios de la ultraestructura y la composición bioquímica. Así se han determinado clases, phylum y subphylum. El phylum *Sarcomastigophora* incluye dos subphyla: flagelados o *Mastigophora* y amebas o *Sarcodina*; *Ciliophora* abarca a los ciliados, *Apicomplexa* o *Esporozoarios* agrupa a los que no poseen movilidad y *Microspora* son los que poseen esporas (véase cuadro 10-1).

Sarcodina

Estos parásitos, designados por otros autores como *Rhizopoda*, se mueven por medio de pseudópodos; como ejemplos se pueden citar *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba gingivalis*. La primera es patógena y causa la **amebiasis o disentería amebiana**. La forma de **trofozoíto** es la que es móvil; se reproduce por fisión binaria. En los preparados coloreados el núcleo es granular y presenta una estructura densa en la parte central o **cariosoma**. La porción más externa del citoplasma o **ectoplasma** puede diferenciarse de la parte más interna o **endoplasma**, que es **granular**. Pueden llegar a verse glóbulos rojos en el interior del parásito, debido a que son su alimento. En la etapa en la que va evolucionando a quiste aparece como una forma redondeada e inmóvil, recubierta por una estructura retráctil al comienzo que es el **prequiste**, con dos núcleos. En este estadio los ribosomas se unen en forma de barras y se denominan **barras cromatoideas**. Posteriormente continúa progresando a quiste; esta etapa se caracteriza porque se aprecian cuatro núcleos, pequeños e idénticos.

La morfología de *Entamoeba gingivalis* (véase fig. 10-1A) como trofozoíto es casi la misma; obviamente no se ven glóbulos rojos en el interior del parásito. No se la ha podido encontrar en

forma quística. Se la ha identificado en materiales obtenidos de bocas con mal estado periodontal y escasa higiene. También se la ha detectado en criptas amigdalinas. Su incidencia en estos casos es de alrededor del 75%, mientras que en bocas sanas desciende menos del 50%. Por la falta de la etapa quística se transmite en forma directa, de boca a boca.

Mastigophora

Estos microorganismos, *Archaezoa*, según otras clasificaciones, se mueven por medio de flagelos. Su aspecto es **fusiforme**, poseen un **citostoma**, y están recubiertos por una membrana externa resistente y flexible; además, presentan una porción que los recorre a lo largo, o **membrana ondulante**, que se considera una modificación de los flagelos.

Como ejemplo de este grupo puede citarse *Trichomonas vaginalis*. Este microorganismo no presenta etapa quística y se transmite en forma directa por contacto sexual, ya que al ser un trofozoíto es muy lábil. *Trichomonas vaginalis* infecta tanto al hombre como a la mujer y la enfermedad que causa se conoce como **tricomoniasis**, una afección muy difundida.

Este microorganismo es sensible al quimioterápico metronidazol que se verá en el capítulo sobre agentes químicos.

Giardia lamblia es un parásito muy similar que afecta el intestino y posee forma quística (fig. 10-1C).

Entre los *Mastigophora* también se encuentra el agente etiológico del mal de Chagas, que se verá más adelante.

Los patógenos de este grupo, en general, se consideran dentro de los flagelados intestinales o de los hemoflagelados (flagelados de la sangre) según su localización.

T. vaginalis es una excepción; según esta clasificación no encuadra en ninguna de estas dos categorías, sino que es un flagelado mucoso.

Trichomona tenax es un flagelado muy similar al anterior que ha sido identificado como comensal en encías, placa dental o biofilm y caries, en bocas con mala higiene.

Ciliata o Ciliophora

La mayoría de los protozoos de este grupo son microorganismos de vida libre; el único que produce patología en el ser humano es *Balantidium coli*, que tal vez sea el protozoo de mayor tamaño (alcanza los 200 µm). Se trata de un parásito intestinal que provoca diarreas y disentería.

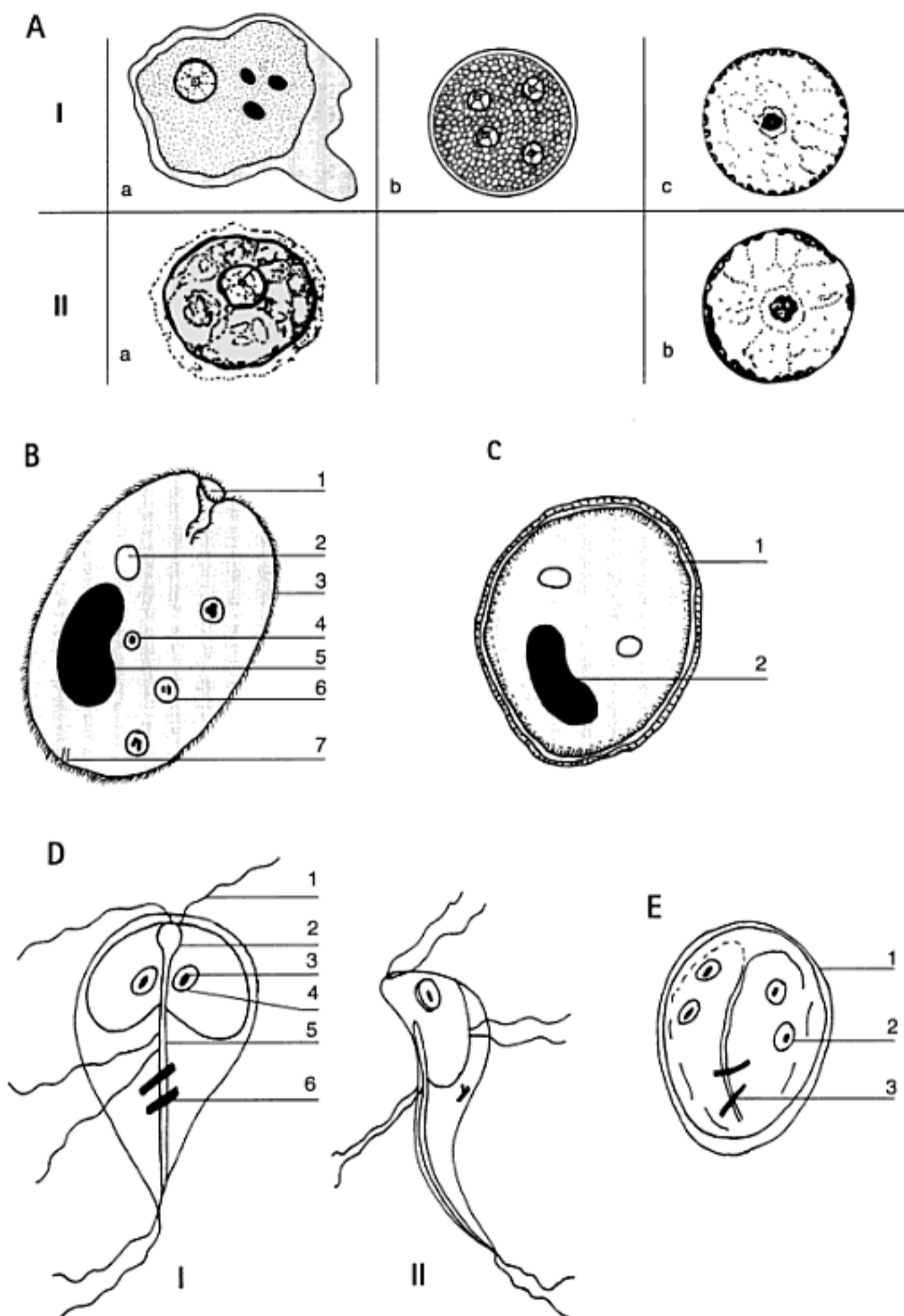


Fig. 10-1. Ejemplos de algunas morfologías de protozoos. **A.** *Sarcodina*. **I:** *Entamoeba histolytica*; a: trofozoíto; b: quiste; c: aspecto magnificado del núcleo. **II:** *Entamoeba gingivalis*. a: trofozoíto; b: aspecto magnificado del núcleo. **B.** *Ciliophora* (*Balantidium coli*): trofozoíto; 1: citosoma; 2: vacuola contráctil; 3: cilias; 4: micronúcleo; 5: núcleo; 6: vacuola alimenticia con contenido; 7: citopigio o ano. **C.** Quiste. 1: cubierta quística; 2: macronúcleo. **D.** *Mastigophora* (*Giardia lamblia*). **I** y **II:** trofozoítos (frente y perfil, respectivamente). 1: flagelo; 2: disco de succión; 3: nucléolo; 4: núcleo; 5: axostilo, 6: cuerpo basal. **E.** Forma quística. 1: membrana quística; 2: núcleo; 3: cuerpo parabasal.

Los trofozoítos ovals están recubiertos de cilios; tienen un macronúcleo y un micronúcleo. El macronúcleo es el encargado de la actividad metabólica; el micronúcleo es responsable de la reproducción sexual (fig. 10-1B). Pueden dar formas quísticas (fig. 10-1C).

La fuente de infección para el ser humano puede ser la ingestión de agua o alimentos contaminados con heces de porcinos.

Se trata de un microorganismo sensible a varios quimioterápicos (véase cap. 12).

El *Paramecium*, que pertenece a este grupo, se reproduce sexualmente por conjugación, pero que difiere del proceso del mismo nombre en las bacterias.

Phylum apicomplexa: esporozoos

Las dos características más destacables de estos parásitos consisten en que en su forma madura son **inmóviles** y se ubican **intracelularmente**, presentan un complejo apical. Son de evolución muy compleja.

Aquí se incluyen, entre otros, los agentes productores de la malaria, *Plasmodium* con varias especies y *Toxoplasma gondii* (no se esquematizan por tener ciclos complejos; véase cap. 26).

Plasmodium presenta un ciclo asexual en el hombre, en el que se multiplica por esquizogonia tanto en el hígado como en la sangre, y un ciclo sexual en el mosquito del género *Anopheles*.

Microspora

Estos protozoos carecen de mitocondrias y microtúbulos, presentan esporos. Se comportan como citoparásitos obligados y son agentes de distintas enfermedades, entre ellas la diarrea crónica.

Parásitos pluricelulares o metazoos

Están dentro, como se señaló en el dominio *Eukarya* y en el reino *Animalia*, subreino *Metazoa*. Están sumamente difundidos en la naturaleza. Pueden tener tamaños que permitan verlos sin el auxilio del microscopio; pueden medir desde 1 mm hasta metros. Comprenden el phylum *Platelmintos*; son gusanos planos en sentido dorsoventral; de éstos, una clase tiene el cuerpo segmentado, son los *Cestoda*, mientras que el otro grupo lo presenta indiviso y constituyen los *Trematodos*. El phylum *Nematode* incluye gusanos cilíndricos. Ambos phylum poseen simetría bilateral.

Los organismos del phylum *Acanthocephala* son gusanos cilíndricos, con cabeza espinosa y

sexos separados, sólo excepcionalmente infectan al hombre.

Artrópodos

Por último, el phylum *Arthropoda* (del griego: *árthron*: articulación, *podein* o *podos*: pie) como su nombre lo indica, abarca organismos de patas articuladas que según las características de su cuerpo se ubican dentro de *Insecta* o *Aracnida* (véase cuadro 10-2). Pueden producir patologías en forma directa, en ocasiones generan cuadros de alergia y otros actúan como vectores de los agentes infecciosos de otras enfermedades (bacterianas, virales, parasitarias).

MEDIDAS PREVENTIVAS

Las **medidas preventivas** para el control de las parasitosis deben apuntar a interrumpir el ciclo reproductivo de los parásitos y por este motivo es muy importante conocer esos ciclos.

En términos generales las medidas incluyen:

- Fundamentalmente educar a la población y tratar de elevar el nivel socio-cultural.
- Potabilización de las aguas.
- Evitar caminar descalzo en zonas rurales.
- Desparasitación de los perros y del ganado.
- Eliminación de insectos y roedores. Estricto control de los animales domésticos
- Si se utilizan fumigaciones, deben respetarse estrictamente las normas para su aplicación.
- Servicios sanitarios adecuados.
- Erradicación de viviendas precarias.
- Adecuada cocción y conservación de alimentos, que deben protegerse especialmente de las moscas.
- Drenajes de pantanos o aguas estancadas, incluso de floreros, plantas y cualquier artefacto que acumule agua.
- Buena higiene personal, en especial de las manos y las uñas.
- Cuidar el medio ambiente, evitar el recalentamiento global.
- Quimioterapia preventiva, en caso de viaje a alguna zona endémica para el paludismo, aunque en la actualidad esta medida no es tan eficaz debido a que se está detectando resistencia a los quimioterápicos por parte de algunos *Plasmodium*. Deben usarse además repelentes de insectos.

Se está trabajando activamente en el estudio de vacunas contra algunas parasitosis.

Resumen

Los parásitos son organismos unicelulares o pluricelulares que viven a expensas de otro ser denominado hospedero, hospedador, hospedante o anfitrión, del cual se alimentan. Los unicelulares pertenecen al *reino Protista*, subreino *Protozoa*, mientras que los pluricelulares o metazoos se ubican en el *reino Animalia*. Todos dentro del Dominio *Eukarija*.

Se establecen distintos tipos de asociaciones entre los parásitos y sus hospedadores, como por ejemplo simbiosis, mutualismo, comensalismo.

Los parásitos deben ser diferenciados de los saprófitos.

Hay distintos tipos de parasitismo, según el grado y tiempo en que se produzca, y así se habla de parasitismo obligado temporario, permanente o periódico. También puede haber parásitos facultativos.

Según desarrollen su ciclo en un solo hospedante o anfitrión, o no, se dice que los parásitos son de evolución directa o monoxénicos, o de evolución indirecta o heteroxénicos.

Se diferencian en ectoparásitos y endoparásitos, según su ubicación en el organismo.

Los hospederos se distinguen según la etapa del parásito que alberguen y su cualidad. Existen hospedadores definitivos, intermedios y paraténicos. Otra clasificación contempla si son hospederos normales u hospederos vicariantes.

Los patógenos humanos producen parasitosis, las que habitualmente son crónicas. Estas enfermedades son más frecuentes en zonas tropicales de bajo nivel socioeconómico, aunque el SIDA, la frecuencia de los viajes y la proliferación de guarderías han incrementado su incidencia.

Las parasitosis se transmiten por mecanismos directos o indirectos a partir de diversas fuentes de infección. Las vías por las que los parásitos producen infección según orden de frecuencia son: la vía digestiva, la inoculación cutánea por parte de un vector o cuando el parásito atraviesa activamente la piel, la vía trasplacentaria cuando la madre infectada transmite la infección al feto a través de la placenta, por ubicación del parásito en cavidades preexistentes o por transmisión sexual y vía transfusional.

Estos microorganismos pueden producir daño por acción mecánica, expoliatriz, tóxica o lítica y por mecanismos inmunológicos, y pueden ser eliminados del organismo infectado a través de las heces, la orina, la expectoración u otras secreciones, o bien, ser traspasados de un hospedero a otro por diversos mecanismos.

Las parasitosis se diagnostican por métodos directos o indirectos.

Los *protozoos* son microorganismos unicelulares eucariotas con un tamaño que va desde 5 a 100 μm ; son heterótrofos, aerobios, móviles o inmóviles y presentan reproducción asexual o ciclos más complejos. En su estadio de trofozoito carecen de pared celular. Presentan una etapa vegetativa o trofozoito y una etapa quística mucho más resistente. Entre estos microorganismos se encuentran algunos de interés odontológico.

Preguntas de revisión

1. ¿Cómo definiría un parásito?
2. ¿Qué tipos de organismos se estudian dentro de los parásitos?
3. ¿Qué tipos de asociaciones pueden establecerse entre los seres vivos?
4. ¿Qué tipos o grados de parasitismo conoce?
5. ¿Qué tipos de hospederos puede mencionar?
6. ¿Qué mecanismos de transmisión de las parasitosis conoce?
7. ¿Qué se entiende por fuente de infección?
8. ¿Qué vías de infección o de entrada de las parasitosis conoce?
9. ¿A qué mecanismos puede atribuirse la acción patógena de los parásitos?
10. Indique vías de salida o de eliminación de algunos parásitos.
11. Describa las características de los protozoos.

12. ¿Con qué dos aspectos pueden presentarse los protozoos?
13. Describa a *E. hystolitica*.
14. Describa a *E. gingivalis*.
15. Señale las características generales de *Mastigophora*; dé un ejemplo.
16. Señale las características generales de *Ciliata*; dé un ejemplo.
17. Señale las características generales de los *esporozoos*; dé un ejemplo.
18. ¿Qué importancia médica tienen los artrópodos?
19. Enumere medidas preventivas de las parasitosis.

Problema 10-1

A un paciente con muy malas condiciones bucales, se le toma una muestra para su examen microscópico en fresco y coloreadas, y se observa un protozoo con aspecto de forma vegetativa y con características de pertenecer al grupo *Sarcodina*.

Preguntas:

1. ¿Qué parásito puede ser?
2. ¿Cuáles son las características de su estructura?
3. ¿Cómo se reproduce?
4. ¿Cómo se moviliza?
5. ¿Por qué se lo encuentra sólo en algunas bocas?
6. ¿Cómo se transmite?
7. ¿Cómo podría diagnosticárselo?
8. ¿A qué otro protozoo se parece?

BIBLIOGRAFÍA

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 8. Clasificación, estructura y replicación de los parásitos. En: Microbiología médica. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006; pp. 75-83.

Negróni M. Capítulo 9: Parásitos: Generalidades. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp.73-81.

Pizzi H, Basualdo JA. Capítulo 108: Generalidades de parasitología. En: Basualdo JA, Coto CE, de Torres RA. Microbiología biomédica. Bacteriología, micología, virología, parasitología, inmunología. Buenos Aires: Editorial Atlante, 2006; pp. 1102-1112.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Capítulo 12: The *Eukaryotes: Fungi, Algae, Protozoa and Helminths*. In: Microbiology. An introduction. 8th ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2004; pp. 334-375.

SECCIÓN 5

Acción de los agentes químicos y físicos

Alcira C. Rosa y María Inés González

Contenidos

Terminología relacionada con la destrucción, la inhibición o la eliminación de los microorganismos. Sepsis. Asepsia. Antisepsia. Desinfección. Descontaminación. Limpieza. Saneamiento. Agentes químicos antimicrobianos. Antisépticos y desinfectantes. Esterilizantes químicos. Conservadores o conservantes. Quimioterápicos. Condiciones ideales de los antisépticos y los desinfectantes. Mecanismo de acción de los agentes químicos antimicrobianos. Factores que afectan la efectividad de un desinfectante. Tipo de agente microbiano o infeccioso. Tiempo de contacto o exposición. Curva de muerte bacteriana. Temperatura. Concentración del desinfectante. pH del medio. Estabilidad del desinfectante. Interferencia de sustancias que actúan como barreras. Nivel microbiológico de los agentes químicos antimicrobianos poco selectivos. Desinfectantes y antisépticos (grupos principales). Detergentes. Ácidos y álcalis. Clorhexidina. Colorantes. Metales pesados. Alcoholes. Halógenos. Yodo y yodóforos. Cloro y compuestos de cloro. Peróxido de hidrógeno. Fenol y derivados fenólicos. Aldehídos. Aspectos que deben tenerse en cuenta en desinfección y antisepsia. Validación del proceso de desinfección. Usos de antisépticos y desinfectantes en odontología.

Objetivos

- Diferenciar el significado de los distintos términos utilizados para lograr el control químico de los microorganismos.
- Describir los procedimientos para reducir, erradicar o destruir agentes microbianos causantes de contaminación o infección.
- Citar las características ideales de los agentes antimicrobianos químicos (antisépticos-desinfectantes) en la práctica dental.
- Describir los diferentes mecanismos de acción sobre la célula microbiana de acuerdo con la zona de impacto primario.
- Describir el nivel microbiológico de diferentes agentes químicos.
- Enunciar formas de aplicación de dichos agentes.

INTRODUCCIÓN

Los procedimientos y las sustancias destinados a reducir o a eliminar agentes infecciosos y contaminantes (p. ej., aceites aromáticos, especias, salado y ahumado de carnes) se utilizan desde hace mucho tiempo y el hombre también ha recurrido a sustancias para momificar sus cadáveres (egipcios).

Pasteur y Koch sentaron las bases científicas en la lucha contra los microorganismos, pero fue el médico escocés Lister quien revolucionó la cirugía

al preconizar técnicas de limpieza, antisepsia y desinfección. Lister aconsejó el empleo del fenol (ácido carbólico) para la antisepsia de la piel (al 2,5%) y para desinfectar el instrumental, así como para la desinfección del ambiente (al 5%). Además, este científico recomendó que el material de vidrio se tratara a una temperatura de 150 °C durante 2 horas. De acuerdo con lo anterior, puede decirse que Lister sentó las bases de lo que posteriormente se definiría como **esterilización**.

TERMINOLOGÍA RELACIONADA CON LA DESTRUCCIÓN, LA INHIBICIÓN O LA ELIMINACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS

Sepsis

Etimológicamente es una palabra derivada del griego que significa sucio, contaminado, infección pútrida en tejidos vivos.

Asepsia

Es la ausencia de microorganismos infecciosos en los tejidos vivos o en un objeto; este término se aplica generalmente para designar las técnicas que impiden el acceso de microorganismos no deseables al área de trabajo.

La tarea de un odontólogo presupone una labor en la que se requiere una técnica aséptica y para conseguirlo deben utilizarse diferentes procedimientos.

Antisepsia

Es el procedimiento por el cual se emplea un agente químico sobre superficies biológicas (piel, mucosas, etc.) con el propósito de inhibir o destruir a los microorganismos. A veces un mismo agente químico puede ser tanto desinfectante como antiséptico.

Desinfección

La desinfección puede determinar la eliminación o la muerte de los agentes infecciosos o contaminantes, pero no asegura la desaparición de todos los microorganismos patógenos ni de los esporos presentes sobre materiales inertes.

La desinfección es un proceso mucho menos preciso que la esterilización. Esta última se refiere a la eliminación o la muerte de todos los microorganismos y sus esporos.

Descontaminación

Es el procedimiento que constituye un paso fundamental en la cadena de maniobras para evitar riesgos al operador. Su objetivo consiste en inactivar microorganismos que impliquen posibilidad de infección.

Es la primera operación que debe realizarse con todo instrumental empleado en la práctica clínica y de laboratorio. Para ello pueden utilizarse procedimientos físicos (véanse caps. 13 y 31-7) o químicos.

Limpieza

La limpieza es un método de desinfección que sirve para disminuir el número de microorganismos; se aplica sobre elementos inanimados. La Oficina Sanitaria Panamericana la define como "la expulsión de microorganismos y sustancias orgánicas de superficies en las cuales puedan sobrevivir y multiplicarse mediante fregado y lavado con agua caliente, jabón o detergente adecuado, o con el empleo de aspiradora".

La limpieza puede realizarse en forma 1) húmeda, con agua, elementos mecánicos o jabón y 2) en seco, mediante el empleo de polvos, paños o aspiradoras.

Saneamiento

El término "saneamiento" se utiliza en salud pública para indicar la disminución de microorganismos, especialmente en las aguas, hasta cantidades no peligrosas.

AGENTES QUÍMICOS ANTIMICROBIANOS

Los agentes químicos antimicrobianos pueden dividirse en:

1. No selectivos:
 - Antisépticos.
 - Desinfectantes.
 - Esterilizantes.
 - Preservadores o conservadores.
2. Selectivos:
 - Quimioterápicos.

Antisépticos y desinfectantes

Los **antisépticos** son sustancias empleadas en tejidos vivos, que previenen o impiden el crecimiento o la acción de los microorganismos por inhibición de su actividad o por la destrucción de ellos. Deben reunir suficiente actividad antimicrobiana y poseer una buena tolerancia local y general.

Los **desinfectantes** son agentes antimicrobianos que se emplean solamente sobre objetos inanimados o medios inertes. Algunos son tóxicos celulares protoplasmáticos con capacidad para destruir tejidos vivos.

Para la FDA (*Food and Drug Administration*) los desinfectantes son "sustancias químicas capaces de destruir en 10 o 15 minutos los gérmenes depositados sobre el material inerte; deben alterar lo menos posible el sustrato sobre el que actúan. Es deseable que destruyan todas las formas vegetativas de las bacterias, además de los hongos y los virus".

En la práctica algunos desinfectantes son microbicidas potentes, pero hasta cierto punto tóxicos e irritantes para los tejidos vivos, por lo que se aplican en superficies, ambientes u objetos inanimados (cuadro 11-1).

Esterilizantes químicos

Son desinfectantes que poseen nivel esporicida.

Preservadores o conservantes

Son agentes químicos que previenen el deterioro por microorganismos en alimentos, líquidos anestésicos, medicamentos, etcétera.

Quimioterápicos

Son agentes químicos de acción selectiva que pueden inhibir o destruir microorganismos y que se utilizan en seres vivos en forma sistémica o local (véase cap. 12).

CONDICIONES IDEALES DE LOS ANTISÉPTICOS Y LOS DESINFECTANTES

No existe ningún agente químico antimicrobiano que sea el "mejor" para todos y cada uno de los casos, dada la diversidad de circunstancias en que pueden utilizarse estos agentes y la composición de las células microbianas sobre las que actúan. Si existiera el agente antimicrobiano ideal, debería poseer las propiedades que se detallan a continuación:

1. Una elevada actividad antimicrobiana aun estando diluido.
2. Amplio espectro de acción sobre las bacterias grampositivas y gramnegativas, las bacterias ácido-alcohol resistentes, los virus y los hongos.

3. Ser microbicida mejor que microbiostático y producir la muerte de los microorganismos en forma gradual y en un tiempo corto (no superior a los 15 minutos).
4. Ser estable por varios meses en sus preparados comerciales y permanecer activo.
5. Mantenerse estable en presencia de materia orgánica.
6. Poseer una homogeneización uniforme en el diluyente, fuera éste agua o alcohol, para que el producto activo tenga la misma concentración en toda su masa.
7. Su actividad debería producirse de preferencia en soluciones acuosas, que penetraran mejor en los exudados, el pus, la sangre, etc., donde podría haber microorganismos.
8. Presentar una baja tensión superficial para que penetrara fácilmente.
9. Ser compatible con otros productos que pudieran usarse antes o simultáneamente.
10. No ser tóxico para los tejidos humanos. Que no exigiera el uso de guantes o el lavado inmediato de superficies vivas con las que hubiera entrado en contacto, etcétera.
11. No ser corrosivo para metales, madera, superficies pintadas, etc., es decir, que no alterara muebles, objetos diversos, etcétera.
12. Sus propiedades organolépticas (olor, sabor, etc.) no deberían ser desagradables.
13. No tendría que desteñir las ropas, las paredes, etcétera.
14. No tendría que perder actividad por la temperatura ni por el pH.

Por ahora no existe ningún agente que reúna todas estas condiciones y de allí la búsqueda constante de nuevos productos químicos que tiendan a cumplir lo más posible con estas premisas.

Otras propiedades que hay que agregar son:

1. Que sean biodegradables.

Cuadro 11-1. Agentes químicos antimicrobianos selectivos y no selectivos

<i>Compuestos</i>	<i>Alcance</i>	<i>Uso</i>
Antisépticos	Inhibe o mata microorganismos	Piel y mucosas
Desinfectantes	Generalmente mata	Objetos inanimados (toxicidad)
Conservadores o preservadores	Impide la descomposición o putrefacción	Productos biológicos (medicamentos, alimentos)
Quimioterápicos (medicamentos)	Inhibe o mata	Sistémico o local (seres vivos)

2. Que posean **sustantividad** (acción residual del agente químico). Es la propiedad de permanecer activo en el sitio o la zona de aplicación. Esta capacidad puede medirse de dos maneras:
- Tiempo necesario para que la actividad anti-séptica disminuya hasta la mitad.
 - Porcentaje de la actividad antiséptica (respecto de lo inicial) que se conserva luego de un tiempo dado (p. ej., 24 horas).

También debemos tener en cuenta, cuando seleccionamos un agente químico, que éste debe poseer nivel microbiológico, químico y clínico.

- El nivel microbiológico está determinado por su poder tuberculicida (cepa de referencia *M. bovis* ATCC N° 35.743), virucida (*Poliovirus* I cepa Mahoney) y esporicida.
- El nivel químico está determinado por la potencia y la estabilidad de sus ingredientes químicos activos.
- El nivel clínico está dado por la mínima cantidad efectiva aplicable sin riesgo para la salud del operador y del paciente.

MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS AGENTES QUÍMICOS ANTIMICROBIANOS

Su acción y su efecto sobre las células microbianas pueden ser:

- Microbicida. El sufijo **-cida** indica muerte, incapacidad de reproducción.
- Microbiostáticos. Este término deriva de la palabra griega **stasis** que significa detención. Los microbiostáticos inhiben el desarrollo y la reproducción (cuadro 11-2).

La línea de demarcación entre ambos tipos de efecto no es precisa, ya que una sustancia microbicida puede comportarse como microbiostática si se usa en baja concentración o durante un período breve.

La acción antimicrobiana no es un fenómeno simple ni tiene lugar instantáneamente, sino que por lo general necesita tiempo. Cuando la veloci-

Cuadro 11-2. Acción de los agentes químicos

Acción	Efecto	Naturaleza
Microbicida	Muerte	Irreversible
Microbiostática	Inhibición metabólica	Reversible

dad de destrucción es lenta, los microorganismos expuestos pueden sobrevivir durante cierto lapso; por el contrario, cuando la velocidad de destrucción es rápida, la actividad es primordialmente letal. La concentración y el tiempo de contacto del agente químico son responsables de un efecto u otro.

Los mecanismos de acción desinfectantes no son simples ni puntuales, sino que por lo general son complejos y pueden comprometer primero una función y luego otras en forma simultánea o secuencial.

Un criterio de clasificación de los desinfectantes considera la **zona de impacto primario** en la célula microbiana (cuadro 11-3).

FACTORES QUE AFECTAN LA EFECTIVIDAD DE UN DESINFECTANTE

Hay que tener en cuenta que en el proceso de desinfección no sólo participan los microorganismos y el agente químico (desinfectante), sino que también intervienen factores que afectan su actividad:

- El tipo de agente microbiano o infeccioso.
- El tiempo de contacto.
- La curva de muerte del agente infeccioso.
- La temperatura.
- La concentración.
- El pH.
- La formulación o tipo de preparado.
- La interferencia de sustancias en el medio que actúen como barrera.

Tipo de agente microbiano o infeccioso

Como ya se ha visto, los hongos, las bacterias, los parásitos y los virus poseen estructuras y una composición química diferentes. Por lo tanto, la acción tóxica va a ser selectiva y diferencial.

Bacteria vegetativa

Por lo general, es destruida rápidamente por la mayor parte de los desinfectantes químicos; los bacilos gramnegativos presentan menor sensibilidad, especialmente *Pseudomonas aeruginosa*.

Bacilos ácido-alcohol resistentes

Mycobacterium tuberculosis y otros bacilos ácido-alcohol resistentes, como *Mycobacterium leprae* y las micobacterias atípicas, no son sensibles a los microbicidas acuosos. Estos microorga-

Cuadro 11-3. Zona de impacto primario en la célula microbiana

<i>Núcleo</i>	<i>Enzimas o proteínas</i>	<i>Pared celular y membrana celular</i>
Colorantes Agentes alquilantes Óxido de etileno	Agentes oxidantes Halógenos Agentes alquilantes Alcoholes Ácidos y álcalis Metales pesados	Aldehídos Agentes tensioactivos aniónicos Agentes tensioactivos catiónicos Fenoles y derivados Bisguanidas Agentes alquilantes Parabenos

nismos son susceptibles al alcohol al 70% con fenol, o con formaldehído, o con yodo y a jabones con un alto contenido de fenol.

Esporos bacterianos

Debido a su resistencia es necesario recurrir a productos químicos de alta toxicidad durante tiempos prolongados (10 hs). La utilización de estos agentes químicos sólo es un recurso válido cuando quiere obtenerse un alto nivel microbiológico de desinfección o si es imposible aplicar otros métodos de esterilización.

Hongos

Los hongos, en general, son más resistentes que las bacterias a los desinfectantes comunes, tales como fenoles, compuestos clorados, yodo, cristal violeta y compuestos mercuriales orgánicos. Algunos compuestos de amonio cuaternario poseen actividad antifúngica. En ciertos casos pueden aplicarse compuestos clorados y algunos yodados, en conjunción con otros métodos (véase más adelante).

Virus

La acción virucida de los compuestos químicos está menos definida. El yodo, el cloro, el glutaraldehído y el formaldehído parecen ser los agentes más activos contra algunos virus. Los solventes orgánicos, tales como el cloroformo y el éter, se utilizan en ocasiones para inactivar virus con envoltura. En cuanto a su sensibilidad, los virus desnudos son menos sensibles a los agentes químicos.

Priones

Los priones son extraordinariamente resistentes a los métodos de desinfección y a los procedimientos de esterilización habituales, como ebullición, estufa a seco, alcohol al 70%, glutaraldehído, formaldehído al 4% (usado para la preservación de biopsias), radiaciones ionizantes y óxido de etileno. En contraste, son comparativamente sensibles

a sustancias que digieran, desnaturalicen o modifiquen químicamente proteínas.

Pueden ser inactivados por calor húmedo a 134 °C durante 18 minutos (OMS 1994).

Los agentes infecciosos con mayor resistencia a los antisépticos y los desinfectantes son los priones, los esporos bacterianos, las micobacterias, los virus desnudos o de pequeño tamaño y las esporas de los hongos.

Tiempo de contacto o exposición

Como ya se ha dicho, los microorganismos no mueren en forma instantánea ni simultáneamente, sino que deben estar en contacto con el agente químico durante un tiempo mínimo para lograr el efecto deseado.

El tiempo necesario para que el desinfectante produzca la muerte de los microorganismos es directamente proporcional al logaritmo de la concentración bacteriana inicial. Se requiere mayor tiempo para destruir concentraciones elevadas de microorganismos que para destruir las concentraciones bajas.

Curva de muerte bacteriana

Esta curva se obtiene al graficar la concentración de microorganismos sobrevivientes en función del tiempo transcurrido. El único criterio válido de muerte es la pérdida irreversible de la capacidad de reproducción.

Cuando una población bacteriana se expone a un agente letal, se produce, a medida que transcurre el tiempo, una progresiva reducción en el número de bacterias sobrevivientes. Por lo tanto, debe reducirse la carga microbiana inicial a fin de asegurar una mayor eficacia en cuanto a la inactivación y la muerte de los microorganismos.

Temperatura

En general, el aumento de la temperatura acelera la destrucción de los microorganismos sometidos a ella.

Una pequeña cantidad de un producto químico dará el mismo resultado que una cantidad mayor del mismo producto que se hubiera probado a temperatura más baja.

Sin embargo, otros desinfectantes pueden inactivarse con el calor, como el cloro.

Concentración del desinfectante

La concentración se relaciona con el tiempo, ya que varía la velocidad de la reacción. Generalmente, cuanto mayor sea la concentración menor será el tiempo, según el agente químico utilizado. La relación es de tipo exponencial y el valor difiere según las sustancias y microorganismos.

pH del medio

El grado de ionización de los desinfectantes dependerá del pH del medio. Los cambios del pH no sólo pueden afectar la actividad de un desinfectante, sino que también pueden incidir en la velocidad de crecimiento de las células bacterianas y en el estado fisicoquímico de sus superficies. Mientras que un pH de 6-8 es óptimo para el desarrollo de algunas bacterias, la velocidad de crecimiento de otras disminuye cuando se acidifica o se alcaliniza el medio.

Los agentes catiónicos, como los compuestos de amonio cuaternarios, por lo general son más activos en solución alcalina que en solución ácida.

Los fenoles y el hipoclorito son más eficaces en un medio ácido. La actividad esporicida del glutaraldehído en solución acuosa es favorecida por un pH alcalino, posiblemente como resultado de un incremento en la interacción con grupos amino. La actividad de los hipocloritos desaparece a valores de pH superiores a 8 debido a la reducción en la cantidad de ácido hipocloroso no disociado.

Estabilidad del desinfectante

Los preparados desinfectantes deberían ser estables en sus formulaciones originales, es decir, sin diluir. Las soluciones de hipoclorito de sodio no lo son y requieren evaluaciones periódicas.

Interferencia de sustancias en el medio que actúan como barreras

Como la desinfección química se realiza por alguna combinación con algunos de los componentes de la célula microbiana, las sustancias orgánicas (sangre, suero, pus, líquidos corporales, exudados, etc.) y otros materiales (como tejidos

textiles, gomas, caucho, polvos, sales, etc.) pueden alterar o interferir en el resultado de dicha actividad.

Las sustancias orgánicas pueden influir por:

1. Formación de una cubierta protectora sobre el microorganismo que impida la acción del desinfectante.
2. Formación de compuestos no microbicidas o inerte o poco activo (alteración del principio activo por reacciones de precipitación, reducción, etcétera).
3. Adsorción del desinfectante a otro elemento que le haga perder su eficacia.

NIVEL MICROBIOLÓGICO DE LOS AGENTES QUÍMICOS ANTIMICROBIANOS POCO SELECTIVOS

El nivel de actividad de los agentes químicos puede ser bajo, intermedio o alto, según el tipo de microorganismo que destruyan (véase cuadro 11-4).

DESINFECTANTES Y ANTISÉPTICOS (GRUPOS PRINCIPALES)

Detergentes

Los detergentes son sustancias que disminuyen la tensión superficial (tensioactivos) y tienen efecto humectante y emulsionante de partículas liposolubles, lo que facilita su remoción mecánica.

Cuadro 11-4. Nivel microbiológico de los agentes químicos

<i>Bajo</i>	<i>Intermedio</i>	<i>Alto</i>
Formas vegetativas bacterianas	Formas vegetativas bacterianas	Formas vegetativas bacterianas
	Bacterias ácido-alcohol resistentes	Bacterias ácido-alcohol resistentes
		Esporos bacterianos
Algunos hongos	Hongos	Hongos
Virus envueltos	Virus envueltos Virus desnudos	Virus envueltos Virus desnudos

Detergentes aniónicos

Se los denomina **jabones** y se los utiliza principalmente para la higiene de la piel y la limpieza de superficies ambientales en clínicas y quirófanos.

Detergentes catiónicos (compuestos de amonio cuaternarios)

El **cloruro de benzalconio** fue el primero que se comercializó (en 1935) por su baja toxicidad y su buena acción detergente. No obstante, a posteriori se advirtió que los residuos aniónicos, las proteínas y otros factores reducían su efectividad.

Con ulterioridad surgieron los compuestos de amonio cuaternarios de segunda generación, en 1955, y después los de tercera generación, que permanecían activos en aguas duras y toleraban residuos aniónicos pero sólo se usaban para limpieza de pisos, paredes, etcétera.

Mecanismo de acción

La acción bactericida de los amonios cuaternarios ha sido atribuida especialmente a la ruptura de la membrana, a la inactivación de las enzimas productoras de energía y a la desnaturalización de las proteínas esenciales de la célula. Poseen un nivel de desinfección bajo.

Estos compuestos son fungicidas, bactericidas y virucidas contra virus envueltos; no son esporicidas y, generalmente, tampoco son tuberculicidas ni virucidas frente a los virus desnudos.

Aplicaciones

Los amonios cuaternarios en diluciones del 1 y el 2% se utilizan con frecuencia en la limpieza ambiental ordinaria de superficies no críticas, tales como pisos, muebles y paredes.

No se recomienda su empleo para la desinfección de instrumental, porque se inactivan en presencia de materia orgánica, jabón y celulosa. Tampoco se los aconseja para la antisepsia de la piel, porque pueden formar una película debajo de la cual las bacterias se mantienen viables.

Soluciones enzimáticas

Las **soluciones enzimáticas** pueden utilizarse como pre-descontaminantes cuando el instrumental o las impresiones dentales poseen abundante carga orgánica. De las enzimas utilizadas las proteasas son las más estables (hasta 60 °C); las lipasas y las amilasas son coadyuvantes de la solución en la que están incluidas; por ejemplo: detergentes. El mecanismo de acción es fisicoquímico.

La técnica de la triple caja es útil para eliminar la sustancia orgánica del instrumental utilizado y favorecer la descontaminación. El primer paso es la pre-descontaminación: el instrumental con sangre y mucina se sumerge en la caja que contiene el líquido enzimático durante un lapso determinado por el fabricante. En el segundo paso se descontamina el instrumental colocado en la segunda caja con algún desinfectante de nivel microbiológico adecuado. El tercer paso es la limpieza, que puede realizarse con detergentes biodegradables en lavadores ultrasónicos durante 10 minutos. Esta técnica es una propuesta de pre-descontaminación que ha sido recomendada para aquellas especialidades odontológicas cuyo instrumental presenta abundante carga orgánica.

El efecto antimicrobiano de las soluciones enzimáticas, según algunos fabricantes, sería microbiostático. En un estudio llevado a cabo en la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires no fue posible demostrar acción antimicrobiana sobre *Candida albicans*, *Bacillus stearothermophilus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

En otro trabajo publicado se concluyó que el detergente trienzimático **no** presentó acción bactericida y, por lo tanto, se sugiere antes de eliminar la solución utilizada inactivarla con hipoclorito de sodio (véase cap. 31-7).

Las cualidades de estas soluciones se detallan en el cuadro 11-5.

Ácidos y álcalis

El efecto antimicrobiano se relaciona con su grado de disociación: cuanto mayor sea la disociación mayor será el efecto bactericida. Los ácidos orgánicos deben su acción a toda su molécula y los álcalis, en general, a su grado de disociación.

El **ácido sórbico**, el **ácido benzoico** y otros ácidos se emplean como conservantes de bebidas, cosméticos, etc.; estos ácidos controlan el crecimiento de hongos y otros microorganismos. El **ácido bórico** en solución acuosa al 4% se emplea como antiséptico en colutorios. El **ácido tricloracético** al

Cuadro 11-5. Cualidades de las soluciones enzimáticas

<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
Facilitan la limpieza Disuelven sangre, mucina 100% biodegradables	La solución no elimina el poder infectivo Alto costo

50% es un poderoso cáustico. El hidróxido de calcio es un álcali muy utilizado en endodoncia.

Clorhexidina

Se trata de uno de los antisépticos con mayor aval bibliográfico y uno de los más usados en odontología; la clorhexidina es el antiséptico que posee mayor sustantividad, pero su nivel de desinfección es bajo. La clorhexidina se utiliza en forma de digluconato. Es activa contra bacterias grampositivas y gramnegativas, pero es menos efectiva contra *Pseudomonas* y especies de *Proteus*. A menudo se le agregan surfactantes catiónicos o no iónicos para mejorar sus propiedades detergentes y humectantes.

La clorhexidina es inactivada por la sangre y otros tipos de materia orgánica. Como es de naturaleza catiónica alcanza su máxima actividad a pH 8, disminuye su efecto a medida que baja el pH y pierde la actividad bactericida por debajo de un pH de 5,2.

Mecanismo de acción

La clorhexidina daña las membranas y provoca cambios en su permeabilidad; en bajas concentraciones da como resultado la pérdida de los constituyentes citoplasmáticos de bajo peso molecular, mientras que en concentraciones elevadas determina la coagulación del citoplasma. Además de la concentración, el efecto producido depende del tipo de especie microbiana.

Aplicaciones

La clorhexidina se utiliza como antiséptico en el lavado de las manos al 4%, para enjuagatorio de las mucosas al 0,12% y para control del biofilm de placa bacteriana (véanse caps. 19 y 20).

El acetato de clorhexidina al 0,01% se usa como preservador en gotas oftálmicas. Cuando se requieren acciones antibacterianas más prolongadas, pueden emplearse cremas y ungüentos que contengan entre 0,1 y 1% de clorhexidina. La actividad de la droga depende del pH (óptimo, 5,5 a 7) y no debe almacenársela mucho tiempo, porque ello aumenta el pH y disminuye su acción.

Estas bisguanidas o bisguanidinas deben conservarse en envases de polietileno, porque el vidrio las adsorbe y, como consecuencia, produce un descenso de su concentración.

Colorantes

Los colorantes se utilizan ampliamente en bacteriología para tinción y como indicadores.

La incorporación de un colorante a un medio de cultivo con frecuencia lo torna selectivo (véase cap. 31-4).

La acción bacteriostática de los colorantes se debe a la modificación del potencial de óxido-reducción del medio, lo que inhibe el desarrollo de los microorganismos. En general, son más activos contra las bacterias grampositivas y algunos hongos. También se los utiliza como reveladores de biofilm de placa dental.

Los principales colorantes son los derivados de la acridina (Proflavina) y los derivados del trifenilmetano (verde brillante y violeta cristal).

La solución hiperosmótica salina con verde brillante se usa para el tratamiento de heridas y quemaduras, y la solución acuosa de cristal violeta al 5% es útil en afecciones de la piel y las mucosas. No obstante, actualmente se desaconseja su empleo debido a su poder cancerígeno sobre las células del hospedero y a que se cuenta con medicamentos más específicos para el tratamiento de estas afecciones.

Metales pesados

Ciertos metales pesados o sus combinaciones químicas ejercen efecto antimicrobiano; los más activos son el mercurio, la plata y el cobre.

Mecanismo de acción

La acción antimicrobiana se debe a la combinación del ion metálico con los grupos sulfhídricos de ciertas proteínas que se desnaturalizan de la célula microbiana; éstas se inactivan, precipitan y, finalmente, producen la muerte.

Acción oligodinámica

Es la propiedad que tienen ciertos metales, especialmente la plata, de ejercer efectos letales sobre las bacterias en cantidades pequeñísimas. El término deriva de dos palabras griegas: **oligos**, que significa poco, y **dynamis**, que quiere decir fuerza, poder. El fenómeno puede demostrarse en el laboratorio si se coloca un trozo pequeño de metal (plata, cobre) limpio sobre una placa con inóculo bacteriano. Después de la incubación se presenta una zona de inhibición (no crecimiento) alrededor de la pieza metálica. La cantidad de metal que produce este efecto inhibitorio es extraordinariamente pequeña y puede expresarse en partes por millón. Se supone que la actividad de estas pequeñísimas cantidades de metal se debe a la elevada afinidad de ciertas proteínas celulares por el ion metálico.

Cuadro 11-6. Concentración de los alcoholes

Solución a preparar	A partir de	Volumen de alcohol	Volumen de agua
Alcohol 70°	Alcohol etílico 95°	760 mL	300 mL
Isopropílico 70°	Alcohol isopropílico puro	700 mL	300 mL

Nitrato de plata

La solución de nitrato de plata al 1% fue utilizada para la prevención de la oftalmía gonocócica en el recién nacido. Actualmente, los antibióticos la han reemplazado.

También existen lápices de nitrato de plata para uso cutáneo, especialmente para verrugas.

Alcoholes

Los alcoholes son compuestos químicos solubles en agua cuyas características germicidas suelen ser generalmente subestimadas. Pueden ser útiles el alcohol etílico y el alcohol isopropílico. Estos compuestos actúan como bactericidas rápidos, más que bacteriostáticos, sobre formas vegetativas de bacterias; son fungicidas y virucidas pero no destruyen las esporas bacterianas. En algunas asociaciones se comportan como tuberculicidas. Su nivel de desinfección es mediano. Su actividad disminuye notablemente cuando se los diluye por debajo del 50%; la concentración bactericida óptima está en un espectro del 60 al 90% (cuadro 11-6). Las concentraciones mayores deshidratan a los microorganismos y los conservan en lugar de destruirlos. Los alcoholes pueden ser utilizados como vehículo de otros desinfectantes o antisépticos.

Otro inconveniente es que se evaporan rápidamente, lo que impide lograr un tiempo de exposición prolongado (véase cuadro 11-7).

Existen disponibles soluciones de alcohol 70° a las cuales se le incorporan geles de Aloe Vera que evita la evaporación inmediata.

Mecanismo de acción

El mecanismo de acción consiste en la desnaturación de proteínas por inhibición de la pro-

ducción de metabolitos esenciales. Esta acción se cumple en presencia de agua y ello explica por qué el alcohol 70° es más efectivo que 95°.

Aplicaciones

1. Antisepsia de la piel.
2. Desinfección de superficies.
3. Para lograr el secado en la antisepsia de las manos.
4. Como vehículo de otros agentes (yodo, clorhexidina).

HALÓGENOS

Yodo y yodóforos

El **yodo** es uno de los antisépticos más antiguos y más eficaces. Actúa contra toda clase de bacterias, algunos virus y diversos hongos. Su nivel de acción es **intermedio**.

Las soluciones de yodo pueden ser acuosas, como el lugol, o alcohólicas. Hay preparados con alcohol al 70° y 1% de yodo (alcohol yodado); otros contienen alcohol al 95° y 2% de yodo (tintura de yodo).

Mecanismo de acción

Altera la síntesis proteica y las membranas celulares, por la formación de complejos con los aminoácidos y los ácidos grasos insaturados.

Un **yodóforo** es una combinación de yodo y una molécula orgánica, a partir de la cual el yodo se libera lentamente. El preparado comercial más común es la yodopovidona, que tiene la actividad antimicrobiana del yodo, pero no mancha y es menos irritante.

Aplicaciones

Según la finalidad las soluciones de yodopovidona se emplean como desinfectante de superficies y como antiséptico de piel y mucosas al 10%. En cavidad bucal al 8% (solución bucofaríngea), para el lavado de manos se usa al 5% (jabón líquido).

Cuadro 11-7. Cualidades de los alcoholes

Ventajas	Desventajas
Bajo costo (etanol)	Inflamables
Escasa acción corrosiva	Se evaporan rápidamente
Útiles como vehículo de otros agentes químicos	Deshidratantes
No dejan residuos tóxicos	Endurecen los plásticos y las gomas

Cuadro 11-8. Cualidades de los yodóforos

Ventajas	Desventajas
Tienen baja toxicidad	Pueden provocar una reacción de hipersensibilidad pero menor que la causada por el yodo
Poseen sustantividad	Su uso prolongado corroe metales y altera plásticos
Son microbicidas más activos que el yodo	Colorean temporalmente la superficie sobre la que se los aplica
Son inodoros	
Son más estables en presencia de sustancia orgánica que el cloro	

También se emplean para descontaminar el instrumental por inmersión al 2,5% durante 10 minutos (véase cap. 31-7).

Otras aplicaciones odontológicas se mencionan en el cap. 20 y sus cualidades en el cuadro 11-8.

Cloro y compuestos de cloro

Los hipocloritos, que son los desinfectantes con cloro más usados, se comercializan en forma líquida (hipoclorito de sodio) y en forma sólida (hipoclorito de calcio). Se trata de preparados baratos y de acción rápida que poseen un nivel de desinfección intermedio. La actividad antimicrobiana del cloro se atribuye en gran parte al ácido hipocloroso no disociado. Esta disociación depende del pH; a medida que éste aumenta, la actividad microbicida disminuye.

Otros compuestos que liberan cloro son el dióxido de cloro y la cloramina T. La ventaja de estos compuestos sobre los hipocloritos es que, al retener el cloro por más tiempo, tienen un efecto bactericida más prolongado.

El mecanismo de acción se basa en la inactivación de las reacciones enzimáticas, de ácidos nucleicos y desnaturalización de proteínas de las células bacterianas. La acción microbicida es muy rápida. Para establecer la relación entre concentración y dilución del cloro véanse los cuadros 11-9 y 11-10. La eficacia de la actividad desinfectante se reduce con el período de almacenamiento, con temperaturas elevadas y con la exposición a la luz solar.

Aplicaciones

Al igual que los compuestos yodados, pueden usarse como desinfectantes. Para descontaminar el instrumental por inmersión es apta una concentración de 0,5% (dilución de lavandina concentrada 1:10) durante 10 minutos.

En endodoncia se recurre a esta solución para el lavado de conductos y es considerado el irrigante

Cuadro 11-9. Cualidades del hipoclorito de sodio

Ventajas	Desventajas
Alta eficacia microbicida	Estabilidad limitada
Toxicidad baja	Corrosivo (a más de 0,5% = 5000 ppm)
Acción potente y rápida	Incompatible con detergentes catiónicos
Bajo costo	Puede provocar dermatitis u otras reacciones
Biodegradable	La materia orgánica limita la acción cuando no hay abundante cloro disponible

de elección mundial; produce desbridamiento superficial con disolución de los tejidos y destrucción de microorganismos.

La concentración de algunos productos en EE.UU. son al 5,25% pero la gran mayoría de los clínicos prefieren concentraciones diluidas al 2,5%. Pues consideran que el porcentaje y el grado de disolución está en función de la concentración del irrigante.

Los hipocloritos y otros germicidas pueden ser inactivados en presencia de materia orgánica. Se ha sugerido el empleo de soluciones diluidas de hipoclorito para la desinfección de las habitaciones de los pacientes con diarrea o colitis asociadas con *Clostridium difficile* a fin de evitar la propagación del microorganismo.

El cloro se utiliza como potabilizador de aguas de consumo (5 mg/L).

Precauciones

- Adquirir marcas comerciales reconocidas.
- Debe tener 55 g/L o 5000 ppm de cloro disponible.
- Usar dentro de los tres meses posteriores a la fecha de envasado.
- Almacenar en lugar fresco y en la oscuridad.
- Usar diluciones recién preparadas.

Peróxido de hidrógeno

La acción antimicrobiana se debe fundamentalmente a la oxidación de los componentes de la célula microbiana; las cualidades de este agente se enuncian en el cuadro 11-11.

En concentraciones del 6% (20 vol) y del 10% (30 vol, estabilizada) el peróxido de hidrógeno posee altos niveles de actividad bactericida, virucida.

En solución al 3% (10 vol) su acción es limitada por la presencia de materia orgánica e inhibida por la catalasa de las bacterias y los tejidos (véase cuadro 11-12). El peróxido de hidrógeno es útil en la antisepsia de las heridas y elimina mecánica-

Cuadro 11-10. Preparación de las soluciones de cloro

<i>Diluciones para obtener la concentración de cloro deseada</i>			
5000 ppm (0,5%)	1000 ppm (0,1%)	500 ppm	100 ppm
1:10*	1:50	1:100	1:500

* Para la descontaminación del instrumental se utiliza una dilución de 1:10; hay que agregar una parte de lavandina a nueve partes de agua en el momento de usar.

mente restos de tejidos y microorganismos atrapados en ellas por el burbujeo que genera la liberación de oxígeno.

Fenol y derivados fenólicos

El fenol ha ocupado un lugar prominente en el campo de la desinfección hospitalaria desde que Lister lo utilizara por primera vez. En la actualidad rara vez se lo utiliza como antiséptico o desinfectante debido a los efectos irritantes sobre la piel y a su olor desagradable.

Los derivados del fenol, denominados fenólicos, contienen una modificación química que aumenta su actividad antibacteriana en combinación con un jabón o un detergente. Las propiedades antimicrobianas de estos derivados superan a las del fenol. También se combinan con cloro para tratar superficies.

El nivel de desinfección de estos agentes es intermedio y su actividad está en íntima relación con la concentración y la especie microbiana a tratar.

Permanecen activos en presencia de compuestos orgánicos, son estables y persisten durante períodos prolongados después de su aplicación. Por estas razones son agentes adecuados para desinfectar pus, saliva y heces.

Un cresol muy importante es el O-fenilfenol, el principal componente de la mayoría de las fórmulas de Lysol®.

Mecanismo de acción

Estos preparados destruyen la pared y la membrana celulares que contienen lípidos, lo que determina la pérdida del contenido celular. La pared celular de las micobacterias tiene gran cantidad de lípidos, lo que las convierte en susceptibles a estos derivados.

Cuadro 11-11. Cualidades del peróxido de hidrógeno

<i>Ventajas</i>	<i>Desventajas</i>
No es tóxico	Es corrosivo
No deja residuos	Es descalcificante
Bajo costo	Destruye tejidos vivos

También inactivan los sistemas enzimáticos (cuadro 11-13).

Índice fenólico

Este índice se utiliza para evaluar la acción bactericida de un desinfectante químico respecto del fenol frente a *Salmonella typhi* ATCC 6539 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

El índice fenólico se determina mediante la relación de la mínima concentración del desinfectante a evaluar respecto de la concentración de fenol que posee el mismo efecto. Es la mayor dilución del desinfectante que elimina en 10 minutos el 99,9% de microorganismos de un inóculo bacteriano estandarizado.

Aldehídos

Formaldehído

El formol es un desinfectante de **alto nivel** que puede ser esterilizante tanto en su estado líquido como gaseoso. La solución de formol con base de agua se conoce como formalina (contiene 37% de formol por peso).

El mecanismo de acción del formol sobre los microorganismos se debe a que alquila las proteínas, lo que conduce al cese de la actividad enzimática.

Hay instituciones que recomiendan que el formol no se utilice en el lugar de trabajo debido a su potencial cancerígeno. Se ha fijado el tiempo máximo que el personal debería exponerse a esos vapores.

Las cualidades del formol se enumeran en el cuadro 11-14.

Cuadro 11-12. Diluciones del peróxido de hidrógeno

3%	10 vol.
6%	30 vol.
30%	100 vol.

Cuadro 11-13. Cualidades del fenol y de los derivados fenólicos

Ventajas	Desventajas
Son estables en presencia de materia orgánica	Son tóxicos
Mejoran sus propiedades humectantes en soluciones que contienen jabones	Son alergizantes
	Pueden dejar residuo viscoso (fenol)

Glutaraldehído

El glutaraldehído es un dialdehído saturado que es activo contra las bacterias grampositivas y gramnegativas, los bacilos ácido-alcohol resistentes, los hongos y los virus; también puede ser esporicida (esterilizante químico). De acuerdo con la bibliografía internacional, no actúa sobre los priones. Las soluciones acuosas a pH ácido de glutaraldehído no son esporicidas, pero sí lo son a pH alcalino (7,5-8,5) y durante determinado tiempo.

Lo que hay que tener en cuenta es la posible polimerización del producto, porque en estas condiciones se bloquean las partes activas (grupos aldehídos) responsables de su actividad biocida.

En los últimos años se han producido nuevos compuestos de glutaraldehído (el glutaraldehído-fenato, el glutaraldehído ácido potenciado y el glutaraldehído alcalino estabilizado).

Las cualidades del glutaraldehído se detallan en el cuadro 11-15.

ASPECTOS QUE DEBEN TENERSE EN CUENTA EN DESINFECCIÓN Y ANTISEPSIA

Ciertos tipos de agentes químicos antimicrobianos son eficaces en algunos casos, pero no en otros y por eso es preciso considerar los siguientes factores:

1. ¿Qué es lo que hay que desinfectar?

Es necesario tener en cuenta las características físicas de los elementos que se van a desinfectar y la posibilidad de que se deterioren (p. ej., corrosión) al entrar en contacto con dichos agentes.

2. ¿Qué procedimiento conviene utilizar?

Los elementos metálicos no deben desinfectarse con oxidantes a menos que contengan un anticorrosivo o que sean de acero inoxidable. No debe colocarse clorhexidina en contenedores plásticos de baja densidad.

3. ¿Cuál es el nivel microbiológico que quiere alcanzarse?

Los agentes químicos no son igualmente eficaces cuando se utilizan como bactericidas, fungicidas o virucidas. También existen diferencias en su acción sobre especies del mismo grupo microbiano. Por consiguiente, es preciso conocer la eficacia del agente elegido respecto del microorganismo que se va a destruir.

4. ¿Cuál es la resistencia del supuesto agente microbiano?

El nivel de resistencia de los microorganismos no es fijo ni invariable y depende de las condiciones del medio y de su programación genética.

En los centros hospitalarios la aparición de resistencia es frecuente y es común observar microorganismos resistentes, como *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*.

En ensayos de laboratorio es posible obtener cepas más o menos resistentes a un desinfectante mediante cambios en el medio de cultivo. Con el agregado de una pequeña cantidad del agente químico al medio de cultivo muchas bacterias no se desarrollarán, pero las sobrevivientes habrán adquirido una resistencia que podrá mantenerse o incrementarse mientras permanezcan en contacto con el desinfectante. Este tipo de resistencia se pierde por subcultivos en medios libres de desinfectantes, es decir que sería de tipo temporal o reversible.

Se han informado casos de resistencia al glutaraldehído que podrían deberse a diferentes factores, como por ejemplo tiempo inadecuado de exposición, tolerancia natural del microorganismo, etcétera.

Otro ejemplo está dado por la acción de los mercuriales, tanto orgánicos como inorgánicos, en cuyo caso la transmisión de la resistencia se debería a posibles mutaciones.

Cuadro 11-14. Cualidades del formaldehído

Ventajas	Desventajas
Inactiva toxinas y virus sin afectar la antigenicidad	Tóxico
Fijador de tejidos	Irritante
Bajo costo	Potencialmente cancerígeno

Cuadro 11-15. Cualidades del glutaraldehído

Ventajas	Desventajas
Alto nivel antimicrobiano	Es tóxico y su inhalación puede ser cancerígena
Poco corrosivo	Irritante de la piel y las mucosas
	No inactiva priones

Cuadro 11-16. Antisepsia en odontología

	¿Dónde?	¿Cómo?	¿Con qué?
Piel	Zona extrabucal	Fricción	Povidona-yodo solución al 10%
	Manos	Fricción	Clorhexidina jabón líquido al 4% Povidona-yodo jabón líquido al 5%
Mucosa	Cavidad bucal	Enjuague	Clorhexidina solución al 0,12 Povidona-yodo solución al 8%
		Topicación	Povidona-yodo solución al 8% Povidona-yodo solución al 10%
		Irrigación	Povidona-yodo solución al 10% Clorhexidina solución al 0,12

Cuadro 11-17. Desinfección en el consultorio

Del instrumental		Inmersión	Hipoclorito de sodio al 0,5% por 10-15 minutos Povidona-yodo al 2,5% durante 15 minutos
De superficie (mesada, platina, pieza de mano)		Fricción	Hipoclorito de sodio al 0,5% Fenol al 5% Alcohol al 70%
Antiparras		Fricción	Clorhexidina, por fricción
Ropa	Lavado	Inmersión	Hipoclorito de sodio al 0,5%
Salivadera	Enjuague	Arrastre	Hipoclorito de sodio al 0,5%

5. ¿Cuál es el nivel químico que quiere lograrse? Este factor también contribuye al éxito de la desinfección y está determinado por la potencia y el mantenimiento de los ingredientes activos; en algunos agentes químicos ese nivel puede monitorearse. En los antisépticos el nivel químico se determina sobre la base del poder residual conocido como sustentividad del antiséptico.
6. ¿Qué nivel clínico posee el agente químico? Este nivel está dado por la mínima cantidad efectiva aplicable sin riesgo para la salud del operador y del paciente.

desinfección. Por lo tanto, cuando se propone el empleo de un desinfectante, sea conocido o nuevo, habrá que tomar en cuenta las siguientes normas, muchas de ellas basadas en los factores ya mencionados:

1. Conocimiento del proceso de obtención y confiabilidad en el proveedor.
2. Máximas referencias bibliográficas del compuesto.
3. Tener en cuenta los diferentes factores que condicionan la efectividad (véase antes), dado que no hay un antiséptico ni un desinfectante ideal y, por lo tanto, algunos podrían desequilibrar la microbiota de los individuos sanos y alterar la biodiversidad del ambiente.

VALIDACIÓN DEL PROCESO DE DESINFECCIÓN

Este concepto era ignorado hasta hace poco y es esencial para que el proceso sea confiable.

Validar es confirmar la eficacia de una sustancia o de un programa formal en la práctica de la

USO DE ANTISÉPTICOS Y DESINFECTANTES EN ODONTOLOGÍA

Véanse cuadros 11-16 y 11-17.

Resumen

La utilización de antisépticos y desinfectantes para el control de diferentes agentes infecciosos y contaminantes todavía presenta inconvenientes; serios y numerosos trabajos de investigación así lo acreditan.

Hay una gran batería de sustancias químicas, antisépticas y desinfectantes con distintos grados de eficacia cuyas ventajas y desventajas se han analizado a lo largo de este capítulo.

Es importante recordar los factores que modifican la acción de estos compuestos, así como también su nivel microbiológico.

Siempre debe mantenerse el criterio de no desinfectar todo aquello que pueda esterilizarse.

Preguntas de revisión

1. Definir sepsis y asepsia.
2. ¿Por qué se dice que la desinfección es un proceso con menos espectro microbiológico que la esterilización?
3. ¿Qué agentes químicos se utilizan para descontaminar el instrumental?
4. ¿Qué es lo que determina el nivel microbiológico?
5. ¿Con qué se relaciona el nivel químico?
6. ¿Qué es lo que determina el nivel clínico?
7. ¿A qué se llama zona de impacto primario celular de un antiséptico o un desinfectante?
8. ¿Qué antisépticos son los más utilizados para la antisepsia de las manos?
9. ¿Qué antisépticos se utilizan para enjuagatorios y para zonas de incisión y punción?
10. ¿Existen desinfectantes ideales? Si la respuesta es negativa, ¿por qué?
11. Definir antiséptico y desinfectante.
12. ¿Qué factores afectan la efectividad de un desinfectante?
13. ¿Qué entiende por sustantividad? Dé ejemplos de agentes que poseen esa propiedad.
14. Indique el mecanismo de acción y el uso habitual de los siguientes desinfectantes: cloro, yodo, derivados fenólicos y agentes oxidantes.

Problema 11-1

La asistente dental del Dr. López Pérez prepara en un recipiente una solución de hipoclorito de Na al 0,5% previo a la atención de los pacientes del día. A medida que finaliza la atención de cada uno de ellos va colocando el instrumental utilizado en el recipiente con esa solución hasta que con el último cuenta 10 minutos.

Preguntas:

1. ¿Es adecuada la preparación previa de la solución descontaminante?
2. ¿Puede seguir colocando el instrumental en forma escalonada en el recipiente?
3. ¿El principio químico permanece activo o se agota?
4. ¿Los 10 minutos que controla son los adecuados?

BIBLIOGRAFÍA

- Cuesta A, Glosca L, Jewtuchowicz V, Rosa A. Optimización del uso de detergentes enzimáticos en la práctica odontológica. *Rev FOUNT* 2004; 17: 16-21.
- D'Aquino M, Rezk R. Desinfección. Buenos Aires: Editorial Universitaria, 1995; pp. 11-186.
- Magariños MC. Esterilización y desinfección. En: Basualdo JA, Coto CE, Torres RA. Microbiología biomédica. Bacteriología, micología, virología, parasitología e inmunología. 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Atlante, 2006; pp. 100-21.
- Marsik FJ, Marsik D, Gerald A. Sterilization, decontamination, and disinfection procedures for the microbiology laboratory. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. *Manual of clinical microbiology*. 6ª ed. Washington: ASM Press, 1995; pp. 87-98.
- Miller C, Palenic C. En: Infection control and management of hazardous material for the dental team. Instrument processing. EE.UU.: Mosby, 1994; pp. 133-70.
- Miller CH, Palenic CJ: Asepsia de superficies y del equipamiento. En: Control de infección y manejo de materiales peligrosos para el equipo de profesionales de salud dental. Madrid: Ediciones Harcourt SA, 2000; pp. 175-89.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Esterilización, desinfección y antisepsia. En: Microbiología médica. Madrid: Elsevier España SA, 2006; pp. 89-94.
- OMS. Desinfección y esterilización. En: Manual de bioseguridad en el laboratorio. 2ª ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1994; pp. 64-75.
- Piédrola Gil G, Piédrola Angulo G. Desinfección y esterilización. En: Liébana Ureña J. Microbiología oral. Madrid: Interamericana-McGraw-Hill, 1995; pp. 521-30.
- Rosa AC, González MI. Agentes químicos inespecíficos: Antisépticos y desinfectantes. En: Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. 1ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana SA, 1999; pp. 85-100.
- Rosa AC, Molgatini S. Control de la infección en operatoria dental. En: Lanata EJ. Operatoria dental. Estética y adhesión. Buenos Aires: Editorial Grupo Guía, 2003; 67-77.
- Rosa AC, Molgatini S, González MI, Negroni M. Antimicrobial effectiveness of enzymatic presoaking by immersion. *J. Dent. Res.* 1997; 76(5):924.
- Rosa AC, Molgatini SL, Piovano S, Marcantoni M. Control de la infección en Odontología. 1ª parte. *Boletín de la Asoc. Arg. de Odontología para Niños*, 2001; 30(1): 11-15.
- Rosa AC, Molgatini SL, Piovano S, Marcantoni M. Control de la infección en Odontología. 2ª parte. *Boletín de la Asoc. Arg. de Odontología para Niños*, 2001; 30(2): 18-23.
- Rosa AC, Molgatini SL, Piovano S, Marcantoni M. Control de la infección en Odontología. 3ª parte. *Boletín de la Asoc. Arg. de Odontología para Niños*, 2001; 30(3): 17-21.
- Rosa AC, Natri CA, Natri L. Un eslabón en la cadena de asepsia (técnica de triple caja). *Rev. Asoc. Odont. Arg.* 1994; 82(2):219-21.
- Rutala AW. Antisepsis, Disinfection and Sterilization in Hospital and Related Institutions. En: *Manual of Clinical Microbiology*. 6a ed. Washington: ASM Press, 1995; pp. 227-45.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Control del crecimiento microbiano. En: *Introducción a la Microbiología*. 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana SA, 2007; pp. 187-213.

ANTIMICROBIANOS, ANTIMICÓTICOS, ANTIPARASITARIOS Y ANTIVIRALES

Marta Negroni

Contenidos

Origen de los agentes químicos selectivos. Acción bactericida y bacteriostática. Espectro antimicrobiano. Condiciones que debería reunir un antimicrobiano selectivo. Antibacterianos. Inhibición de la síntesis de la pared celular. Alteración de la membrana celular. Inhibición de la síntesis proteica. Inhibición de ácidos nucleicos. Competitividad metabólica o antimetabolitos. Antimicóticos. Antimicóticos para micosis superficiales. Antimicóticos para micosis profundas. Antiparasitarios. Antivirales. Resistencia. Resistencia natural. Resistencia adquirida. Resistencia cruzada. Efectos adversos de los antimicrobianos. Efectos de los tratamientos combinados. Aplicaciones generales y odontológicas de los antimicrobianos.

Objetivos

- Mencionar los distintos orígenes que pueden tener los antimicrobianos.
- Citar la diferencia entre bactericida y bacteriostático.
- Enumerar los mecanismos de acción de los antimicrobianos.
- Citar fármacos antimicóticos, antivirales y antiparasitarios, y explicar el mecanismo de acción de uno de cada grupo.
- Describir los tipos de resistencia bacteriana que se conocen.
- Citar tres efectos adversos de la antibioticoterapia.
- Enumerar usos de los antimicrobianos en odontología.

INTRODUCCIÓN

El hombre ha tratado de buscar alivio a sus padecimientos desde tiempos remotos, pero en aquel entonces lo hacía sobre bases totalmente empíricas.

Cuando se conocieron los agentes infecciosos, comenzó la denodada lucha por combatirlos tanto fuera como dentro del organismo.

Una de las enfermedades más temidas era la sífilis y en la búsqueda de un fármaco contra ella se destaca, hacia fines del siglo XIX, el descubrimiento del salvarsán por parte de Paul Erlich.

ORIGEN DE LOS AGENTES QUÍMICOS SELECTIVOS

Recién en el siglo XX sir Alexander Fleming descubrió que el producto de un hongo impedía el

desarrollo de *Staphylococcus aureus*. Así se inició la **era antibiótica** con la comercialización de estos fármacos en la década 1930-1940.

El proceso por el cual un producto de un microorganismo evitaba el desarrollo de otro microorganismo se conocía como antibiosis.

Se introdujo el término "antibiótico" para designar a las sustancias segregadas por un microorganismo que en pequeñas cantidades eran capaces de inhibir otros gérmenes.

Al producto del metabolismo de *Penicillium notatum* se lo bautizó como **penicilina**.

Luego se descubrieron otros antibióticos y se trató de estabilizar el producto, así como de introducirle ciertas modificaciones.

Se convino en que el término "antibiótico" no reflejaba realmente el proceso de obtención. Entonces se buscó uno más adecuado debido a que estos agentes ya no eran resultado del metabolismo natural de los hongos o las bacterias y se decidió

llamarlos **quimioterápicos**, nombre que tampoco resultó apropiado debido a que todo fármaco que se produce por síntesis química y que se usa con fines terapéuticos es un quimioterápico, como de hecho lo es una aspirina o los agentes que se usan para combatir tumores.

Posteriormente pasaron a llamarse antimicrobianos todas las sustancias químicas destinadas a impedir el desarrollo de los microorganismos o a destruirlos. Según su acción y el sitio donde actúen estos fármacos pueden ser **antisépticos**, **desinfectantes** o **antimicrobianos** de aplicación clínica, como se vio en el capítulo anterior. En este grupo se incluyen los **antibióticos** y los llamados **quimioterápicos**. Algunos son **productos naturales**, mientras que otros son producidos por **síntesis química**.

Los fármacos **semisintéticos** son aquellos en los que a un grupo químico obtenido del metabolismo secundario de un microorganismo se le introduce alguna modificación.

En la práctica diaria se sigue usando el término "antibióticos" para designar a todos estos agentes y así diferenciarlos de los desinfectantes y los antisépticos.

ACCIÓN BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA

Los antimicrobianos pueden diferenciarse según el efecto que producen en los microbios. Así, hay algunos que sólo detienen su desarrollo y se llaman **bacteriostáticos** y otros que los matan o lisan y se denominan **bactericidas**. Este límite no siempre es neto, porque a veces depende de la concentración y del tiempo. Los bactericidas actúan en la fase de crecimiento, mientras que los bacteriostáticos lo hacen en la fase estacionaria (véase curva de crecimiento cap. 6).

Entonces puede decirse que según su efecto los antimicrobianos son bactericidas o bacteriostáticos. El sufijo **-cida** o **-stático** se agrega al tipo de microorganismo sobre el que actúan y, por lo tanto, también se habla de **fungicida** o **fungistático**, **virucida** o **virustático**, **parasiticida**, etcétera.

Muchos antibióticos tienen un sitio primario de acción, que consiste en alterar algún paso de la síntesis de macromoléculas microbianas. Alguna de las partes de la célula son el órgano de choque de estos agentes químicos. Esto es relativamente fácil para los procariontes debido a que la estructura de las bacterias difiere sensiblemente de la de las células eucariotas que se encuentran en organismos superiores.

ESPECTRO ANTIMICROBIANO

Según la cantidad de gérmenes sobre los que pueda actuar un antibiótico, se dice que hay **antimicrobianos de espectro reducido** respecto de otros que, por impedir el desarrollo o destruir a diversos tipos de microorganismos, se conocen como de **amplio espectro**.

CONDICIONES QUE DEBERÍA REUNIR UN ANTIMICROBIANO SELECTIVO

Todo buen antibiótico debería reunir ciertas condiciones indispensables, a saber:

Toxicidad selectiva: sería deseable que actuara sólo sobre el microorganismo. Sin embargo, si bien como se dijo esto se logra con cierta facilidad, casi ningún antibiótico está exento de producir efectos secundarios. Por otro lado, la acción de estos fármacos se manifiesta también sobre la **microbiota normal**, lo que puede generar **alteraciones**, tales como el crecimiento exagerado de un hongo (superinfección).

Deberían ser de **fácil obtención**, lo que redundaría en un costo razonable.

Sería ideal que tuvieran alta **eficacia o elevada potencia**, es decir que con bajas dosis se lograra un efecto máximo.

Se aspira a que alcancen **niveles adecuados** en suero y en líquidos orgánicos; deberían ser **solubles** en ellos. No obstante, deberían **degradarse lentamente** para que la acción se mantuviera por más tiempo.

No deberían generar resistencia por parte de los microorganismos.

Podría agregarse que sería útil que actuaran sobre muchos microorganismos patógenos, es decir que fueran de **amplio espectro**, pero sin alterar la microbiota normal, lo cual es imposible.

Los antimicrobianos se agrupan de acuerdo con su estructura química o su mecanismo de acción, y de los que tienen el mismo mecanismo y una constitución química similar se dice que son de la misma **familia de antibióticos**.

ANTIBACTERIANOS

Los mecanismos primarios de acción de los antimicrobianos son cinco:

1. Inhibición de la síntesis de la pared celular.
2. Alteración de la membrana celular.

3. Inhibición de la síntesis de proteínas.
4. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos.
5. Competitividad metabólica.

Inhibición de la síntesis de la pared celular

No todos los agentes que actúan a nivel de la pared lo hacen exactamente igual, pero en términos generales **la alteración de la pared celular conduce a la lisis de la bacteria.**

El grupo conocido como **beta-lactámicos** incluye muchos compuestos. Mencionaremos en primer término el caso de la **penicilina**. En la primera etapa de acción de la droga ésta se une a unas proteínas normalmente presentes en esa pared. Estas proteínas, que se conocen como proteínas de unión para la penicilina (PBP de *penicillin binding protein*), en realidad son enzimas que catalizan la formación de la pared. Por lo tanto, se impide la síntesis de la pared celular y especialmente se evita que se formen los enlaces cruzados. Por este motivo estos antimicrobianos son útiles particularmente en las células en crecimiento que es cuando se forma esa estructura.

En sus orígenes, la penicilina se obtuvo del producto de un hongo conocido como *Penicillium notatum*; una vez que se conoció su estructura química se la reemplazó por derivados o se indujeron cambios en la estructura química que favorecen su absorción intestinal y le brindan mayor estabilidad.

Como penicilinas más estables a los ácidos, pueden citarse la **ampicilina** y la **amoxicilina**.

Algunas bacterias segregan una enzima que inhibe la penicilina. El **ácido clavulánico**, producto natural de *Streptomyces clavuligerus*, **inactiva esa enzima** denominada **penicilinasas** pero tiene bajo poder microbicida y, por lo tanto, debe asociárselo con algunas penicilinas. Otros antibióticos que evitan el efecto de la penicilinasas son el **monobactam** y el **aztreonam**.

Además de las mencionadas, existen muchas **penicilinas semisintéticas o sintéticas**, como por ejemplo la **metecilina**. Esta droga tuvo el inconveniente de dar origen a cepas de *St. Aureus* resistentes a ese antimicrobiano, de allí el uso de la sigla MRSA (*St. Aureus* resistente a la metecilina).

Otros antimicrobianos dentro de este grupo (la **nafcilina** y la **cloxacilina**) son resistentes a la penicilinasas.

Las **cefalosporinas**, que también actúan a nivel de la pared pero en la última etapa de su síntesis, se clasifican en generaciones que van desde la primera generación hasta la cuarta, lo que no depende del momento en que aparecieron, sino del espectro de acción que tienen.

Puede decirse que todos los antimicrobianos que ejercen su acción a nivel de la pared son más efectivos contra los microorganismos grampositivos, los estreptococos y los estafilococos, pero también son útiles contra los gonococos y las espiroquetas. Los más recientes actúan sobre neumococos, clostridios, etc. Las cefalosporinas de tercera generación, además de llegar bien al sistema nervioso central, destruyen bacilos gramnegativos; las de cuarta generación también son útiles para combatir a este grupo de gérmenes, incluidos algunos resistentes a las cefalosporinas de tercera generación y microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae*.

La **fosfomicina**, un antibiótico de estructura química distinta de la de los beta-lactámicos, impide otra etapa de la síntesis de la pared, **afecta la formación de enlaces glucosídicos**, N-acetilglucosamina, N-acetilmurámico, que se realiza en el interior del citoplasma.

Otros antibióticos polipeptídicos, como la **vancomicina**, **bacitracina** y **cicloserina**, ejercen su acción en la etapa intramembranosa de la síntesis de la pared, inhiben la elongación de la cadena de peptidoglucanos.

Algunos agentes que actúan sobre micobacterias, como la **isoniacida** y **etambutol**, lo hacen a nivel de la pared celular. En este caso **inhiben la formación de ácido micólico**.

Alteración de la membrana celular

Los antibióticos que actúan sobre esta estructura producen una alteración de la permeabilidad de la membrana celular. Para llegar a esta zona tienen que ser capaces de atravesar la pared celular. Una vez que estos fármacos han dañado la membrana, permiten la salida de los constituyentes celulares, especialmente metabolitos importantes.

La **polimixina B**, obtenida de *Bacillus polymyxa*, es un polipéptido que ataca los fosfolípidos, es bactericida, afecta a los microorganismos gramnegativos pero sólo puede ser usada en forma tópica. El **colistín** es muy similar.

La **anfotericina B** y la **nistatina**, que son antimicóticos, se unen al grupo esteroles de la membrana y, por lo tanto, sólo son activas contra los microorganismos que contienen estos compuestos en su membrana.

Inhibición de la síntesis proteica

Los fármacos que llegan a los ribosomas, que es el sitio donde tiene lugar la síntesis proteica, son

los que poseen la capacidad de atravesar la pared y la membrana celular. Estos antibióticos se unen a distintas fracciones de los ribosomas.

Como ejemplo de los que se unen a la fracción 50S, puede citarse el **cloranfenicol**, que es uno de los agentes útiles para el tratamiento de la fiebre tifoidea.

La **oxazolidona** actúa sobre esta fracción y bloquea la unión de la síntesis proteica.

La **eritromicina**, que pertenece al grupo de los macrólidos por su composición química (un anillo lactona unido a aminoazúcares), es eficaz contra gérmenes grampositivos, *Mycoplasma*, *Chlamydia trachomatis* y especies de *Legionella*.

La **claritromicina** y la **azitromicina** poseen un espectro de acción similar al de la eritromicina; esta última es activa contra las micobacterias.

La **lincomicina** y la **clindamicina** comparten el mecanismo de acción con las anteriores, pero difieren en su composición química.

La **tetraciclina**, que tiene un anillo naftaleno, se une a la fracción 30S y su espectro de acción es amplio.

Los **aminoglucósidos**, como la **gentamicina**, la **tobramicina**, la **estreptomina** y la **amikacina**, tienen la propiedad de unirse a los ribosomas en distintos sitios y en ambas fracciones. Estos fármacos son muy útiles en el tratamiento de las infecciones debidas a gérmenes gramnegativos.

Si hubiera antimicrobianos que actuaran sobre los ribosomas 70S, afectarían a células eucariotas, que poseen este tipo de ribosomas en sus mitocondrias.

Algunos de estos antibacterianos, además de actuar a nivel de la síntesis proteica, alteran el DNA.

Los **nitrofuranos** (anillo furfural con grupo nitro), que se obtienen de distintos vegetales, actúan sobre gérmenes gramnegativos, bacterias entéricas, algunos protozoos y hongos. Se los prescribe especialmente en casos de infecciones urinarias.

Inhibición de ácidos nucleicos

La **rifampicina**, que se obtiene en forma semisintética a partir del *Streptomyces mediterranei*, es un ejemplo de los antibacterianos que actúan por este mecanismo. La rifampicina es eficaz contra *Mycobacterium tuberculosis*, pero produce resistencia rápidamente, por lo que se la asocia con otros antimicrobianos. Puede ser bactericida para cocos aerobios grampositivos.

La rifampicina se une a la fracción o subunidad DNA dependiente de la RNA polimerasa, por lo que impide la iniciación de la síntesis de RNA y evita el comienzo de la transcripción.

Las **quinolonas** son compuestos químicos que interfieren en su síntesis; no hay replicación. Un ejemplo está dado por el **ácido nalidíxico** empleado en el tratamiento de las infecciones urinarias.

De más reciente aparición, son las fluoroquinolonas **ciprofloxacina** y **norfloxacina** (entre otras) que son derivados fluorados, de espectro antibacteriano más amplio y que no seleccionan mutantes resistentes.

El **metronidazol**, que se utiliza para el tratamiento de ciertas parasitosis y es eficaz contra gérmenes anaerobios, produce ruptura del DNA, entre otros efectos.

Competitividad metabólica o antimetabolitos

Estos componentes, en general, compiten con un precursor de aminoácidos como el ácido para-amino-benzoico o **PABA** y así evitan la síntesis del ácido fólico que requieren muchos microorganismos.

Estas drogas tienen una estructura química muy parecida al PABA, por lo que son análogos estructurales. Este mecanismo de acción es patrimonio

Cuadro 12-1. Principales mecanismos de acción de los antimicrobianos antibacterianos

Inhibición de la síntesis de la pared celular:

- Penicilinas
- Cefalosporinas
- Fosfomicina
- Carbapenemes
- Aztreonam
- Vancomicina
- Bacitracina
- Teicoplanina

Alteración de la membrana celular:

- Polimixina
- Anfotericina B
- Nistatina

Inhibición de la síntesis proteica:

- Tetraciclina
- Cloranfenicol
- Aminoglucósidos

Inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos:

- Rifampicina
- Quinolonas
- Metronidazol

Competitividad metabólica:

- Sulfamidas
- Trimetoprima
- PAS

de las sulfonamidas, que tienen efecto **bacterios-tático** y un espectro bastante amplio: actúan contra gérmenes grampositivos y gramnegativos, contra *Nocardia*, contra *Chlamydia* y contra algunos protozoos. Los humanos no sintetizan ácido fólico del PABA, lo adquieren como vitaminas con los alimentos.

La **trimetoprima**, un análogo del ácido dihidrofólico, se asocia con el sulfametoxazol. Esta asociación está muy difundida y es útil tanto contra microorganismos grampositivos como contra gérmenes gramnegativos. Se la indica en infecciones urinarias y para tratar la infección por el hongo *Pneumocystis jirovecii* (ex *P. carinii*).

El ácido paraaminosalicílico o **PAS** es muy similar al **PABA**, por lo que se comporta como un antimetabolito eficaz para el tratamiento de la tuberculosis. Como sucede con otros tuberculostáticos, debe controlarse su uso para evitar resistencias.

Otro agente dentro de este grupo es la **dapsona**.

En el cuadro 12-1 se dan ejemplos de los principales antimicrobianos según su mecanismo primario de acción.

ANTIMICÓTICOS

Existen muchos menos antimicóticos, antiparasitarios y antivirales que antibacterianos. En el caso de los dos primeros esto es consecuencia de que los hongos y los parásitos están constituidos por células eucariotas, lo mismo que los mamíferos y, por lo tanto, lo que los afecte probablemente también afecte a las células humanas. Los virus, en general, requieren células eucariotas para replicarse. Esto supone que estos fármacos tendrían que actuar interfiriendo con alguna de las etapas de la replicación viral que se realiza en las células hospedantes. Es sumamente difícil que un agente químico alcance el interior de una célula eucariota para destruir un virus, sin afectar algo de la estructura de la célula que los alberga.

Los esfuerzos de los investigadores y de los laboratorios medicinales han dado sus frutos y actualmente se dispone de antimicóticos útiles, también hay antiparasitarios y antivirales.

Antimicóticos para micosis superficiales

La **griseofulvina**, que es el producto de otro hongo conocido como *Penicillium griseofulvum*, evita la mitosis y, por lo tanto, impide el desarrollo del hongo. Disuelve la queratina de la piel y afecta la quitina de la pared celular micótica.

La **nistatina**, un **antibiótico poliénico** por su estructura química conformada por dos o más enlaces dobles covalentes que unen átomos de carbono, como se dijo antes, afecta los esteroides de la membrana celular. Es específica para *Candida* y es algo tóxica.

El **tionaftato**, la **naftifina** y el **tiocarbamato** son más recientes y conducen a la depleción del ergosterol. Estos agentes son menos tóxicos.

Antimicóticos para micosis profundas

La **anfotericina B** es otro poliénico cuyo mecanismo ya se mencionó y que lamentablemente produce efectos secundarios adversos.

Puede administrarse en formulaciones lipídicas, en esa forma tiene menor toxicidad.

En algunos casos se asocia con la **flucitosina** que es un **antimetabolito**.

Más inocuos pero algo menos efectivos según los casos son los **compuestos imidazólicos o imidazoles**, o **azoles**, como el ketoconazol, el fluconazol, el itraconazol, bifonazol, econazol, miconazol, terconazol. Todos estos compuestos inhiben la síntesis del ergosterol, por lo que su acción se manifiesta a nivel de la membrana. También se los usa en preparados de acción local (cuadro 12-2). Afortunadamente, las membranas de las células animales contienen colesterol, de modo tal que no se ven afectadas.

Otros antimicóticos más novedosos son el **voriconazol**, **posaconazol** que son semejantes a los imidazoles pero más específicos.

Las **equinocandinas** de más reciente aparición inhiben la síntesis de glucanos que actúan sobre la pared.

En fase de investigación existen otros preparados que, aunque están en el mercado, aún no son difundidos en nuestro medio.

ANTIPARASITARIOS

Como ya se ha dicho, entre los antibacterianos existen algunos con capacidad para actuar contra algunos parásitos del tipo de los protozoos, como el **metronidazol**, las **sulfas** y la asociación **trimetoprima-sulfametoxazol**.

Cuadro 12-2. Ejemplos de antimicóticos

Anfotericina B
Nistatina
Griseofulvina
Tionaftato, naftifina, tiocarbamato
Compuestos imidazólicos

La **cloroquina** es un fármaco que se utiliza desde hace mucho tiempo porque en un principio era de origen natural. Se la extraía de la corteza de un árbol. Luego comenzó a producirse en forma sintética, para combatir el paludismo. Este fármaco posee la ventaja de que la droga se concentra sólo en el parásito.

Para el tratamiento de las infecciones causadas por helmintos se recurre a **benzimidazoles**.

Existen otros antiparasitarios que no nos interesa citar, porque a nivel bucal prácticamente no hay parasitosis. En el capítulo 26 se mencionan otros antiparasitarios y sus aplicaciones (cuadro 12-3).

ANTIVIRALES

Tres serían los mecanismos por los que una sustancia sería un antiviral efectivo: por actuar sobre actividades importantes del virus pero no de la célula, por evitar la replicación viral o por alterar alguna estructura necesaria para la replicación.

El inconveniente de los virus es que, una vez que entran en la célula, son ellos los que dirigen los mecanismos de ésta.

Se dice que los mejores antivirales son los que actúan en las etapas tempranas del ciclo de replicación, esto es, en las etapas de adsorción, entrada y denudación del genoma (véase cap. 8).

El **foscarnet**, un agente útil contra todos los herpesvirus, es un inhibidor de la polimerasa e impide la replicación.

La **amantadina** evita la penetración y la descapsidación del virus de la influenza, tipo A.

Otros antivirales que ejercen su acción en estas etapas tempranas son las **sustancias polianiónicas** (polisulfatos, polisulfonatos, policarboxilatos y polioximetatos). Estas sustancias, que serían efectivas para controlar la infección por HIV, las infecciones por herpesvirus, además de las causadas por otros virus envueltos, poseen la ventaja de que se las obtiene a partir de fuentes naturales, pero serían más indicadas para uso tópico.

La **idoxiuridina**, la **vidarabina**, la **azidotimidina** o **AZT**, el **aciclovir**, el **ganciclovir** y la **trifluridina** son análogos de los nucleótidos. El aciclovir se usa para el tratamiento de las infecciones

por herpesvirus y la AZT se utiliza para tratar a los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. Los que se indican para esta patología se los conoce como **antirretrovirales**.

El **α -interferon** se lo utiliza por la propiedad de **inhibir la diseminación de virus** a células nuevas.

Recientemente han aparecido drogas nuevas y promisorias para tratar la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y otras virosis. Algunas de estas drogas se mencionan en los capítulos respectivos y en el cuadro 12-4 se citan las más conocidas para el odontólogo.

Actualmente se han agregado otros **inhibidores de enzimas**, como la neuraminidasa para controlar la influenza o gripe; en nuestro país se conoce el **tamiflu**.

Ésta es una apretada síntesis, con ejemplos de drogas y mecanismos de acción de cada grupo; la variedad de fármacos es bastante amplia y la aparición de productos nuevos es constante.

Cuando se descubrieron los antimicrobianos, se pensó que el problema de las enfermedades infecciosas podría controlarse por medio de vacunas o de drogas, pero con posterioridad se comprobó que incluso los microorganismos que en un comienzo cedían con la aplicación de un antibiótico luego lograban sobrevivir o persistir aun en presencia de él.

RESISTENCIA

La resistencia puede definirse como el proceso por el cual un microorganismo de determinada especie puede vivir en concentraciones de antimicrobiano que destruirían a otro de la misma especie.

Es posible que el primer fenómeno de resistencia percibido haya correspondido a la resistencia de *Staphylococcus aureus* frente a la penicilina merced a la secreción de la enzima penicilinasas.

Actualmente se sabe que hay muchos fenómenos de resistencia y que los mecanismos son múltiples y muchas veces dependen del tipo de antimicrobiano.

En términos generales puede decirse que hay dos tipos de resistencia: 1) resistencia natural y 2) resistencia adquirida.

Cuadro 12-3. Ejemplos de antiparasitarios

Cloroquina
Benzimidazoles
Metronidazol
Sulfas y asociaciones

Cuadro 12-4. Antivirales

- Foscarnet
- Amantadina, trifluridina
- Idoxiuridina, vidarabina, ganciclovir
- Azidotimidina (AZT), aciclovir
- Sustancias polianiónicas

Resistencia natural

La resistencia natural es consecuencia de que el microorganismo carece de la estructura o grupo químico sobre el que actuaría el antimicrobiano. Por ejemplo, los micoplasmas no son destruidos por los fármacos que actúan a nivel de la pared celular.

Resistencia adquirida

La resistencia puede deberse a: a) una mutación cromosómica espontánea (es un proceso natural y lento) y b) la adquisición de material genético extracromosómico.

Esto se produce por cuatro mecanismos: Conjugación, transformación, transducción y transposición (véase cap. 7).

Como consecuencia de estos cambios, es posible que el antimicrobiano no sea eficaz porque:

1. La bacteria produce una enzima que lo destruye, por ejemplo la penicilinas.
2. Se produce una alteración de los canales de las porinas que no permiten el pasaje o el ingreso del fármaco.
3. Se altera la permeabilidad de la membrana celular y deja salir fácilmente el antibiótico que ingresó (eflujo).
4. El fenómeno de resistencia hace que se modifiquen los sitios donde debe unirse el antimicrobiano, especialmente zonas de los ribosomas, o sea que hay una alteración del "blanco" (o lugar de impacto); la célula cambia la afinidad hacia el antibiótico.
5. Producción de enzimas diferentes.
6. Alteración de las vías metabólicas.

Resistencia cruzada

La **resistencia cruzada** es la que se manifiesta frente a distintos antimicrobianos que tienen el mismo mecanismo de acción.

La resistencia bacteriana puede limitarse o reducirse si:

1. Se establece un diagnóstico etiológico correcto.
2. Se administran las dosis adecuadas del antimicrobiano durante el tiempo indicado.
3. En ocasiones se utilizan drogas combinadas, como se hace con el tratamiento de la tuberculosis.
4. Se evita el abuso de estas drogas, especialmente en ambientes en los que el pasaje de microorganismos es más factible.

5. Se limita el uso de alimentos con antimicrobianos en los animales, ya que esa resistencia puede pasar a los seres humanos.

6. Se educa a la población para que tome conciencia del perjuicio de la automedicación.

Los antimicóticos pueden generar resistencia, pero por otros mecanismos diferentes de los aquí expuestos.

EFFECTOS ADVERSOS DE LOS ANTIMICROBIANOS

Además de los fenómenos de resistencia y de las disbacteriosis debidas a la supresión de la microbiota natural del organismo, los antimicrobianos son responsables de reacciones de **alergia**, especialmente la penicilina. Otros, como el cloranfenicol, pueden causar **anemia aplásica**. La estreptomycin usada por períodos prolongados causa **hipoacusia (sordera)** por alteración de los nervios craneanos. La anfotericina B es marcadamente **nefrotóxica**.

La tetraciclina, además de otros efectos secundarios, origina **pigmentaciones dentarias**.

Los macrólidos, entre otros, desencadenan **alteraciones intestinales y hepáticas**. No deben prescribirse a mujeres embarazadas.

La AZT causa **disminución de los glóbulos rojos y blancos** por supresión de la médula ósea. Cuando sea preciso recurrir a tratamientos con antibióticos que puedan tener alguna de estas consecuencias, los pacientes deberán ser "monitoreados" permanentemente.

EFFECTOS DE LOS TRATAMIENTOS COMBINADOS

Los tratamientos combinados pueden asociarse con fenómenos de **sinergismo, antagonismo e indiferencia**.

El **sinergismo** es el efecto que se obtiene cuando al administrar simultáneamente dos drogas o más se logra un resultado superior al que se hubiera alcanzado con cada una de ellas por separado.

Antagonismo. En este caso se logra un efecto inferior al que se obtendría con una sola de las drogas y, por lo tanto, debe contraindicarse su uso.

Indiferencia. En este caso la administración de una asociación de antimicrobianos no implica ninguna variación, pues el resultado es el mismo que cuando se indica uno solo. También debe contraindicarse esta combinación.

APLICACIONES GENERALES Y ODONTOLÓGICAS DE LOS ANTIMICROBIANOS

Los antibióticos suelen usarse con dos finalidades, a saber: 1) para aprovechar su acción antiinfecciosa o quimioproliférica y 2) por su acción curativa o terapéutica sobre las enfermedades infecciosas.

En el primer caso los antimicrobianos se utilizan para prevenir infecciones, especialmente cuando se va a llevar a cabo una intervención quirúrgica en una zona muy colonizada por microorganismos. Un ejemplo de lo anterior en odontología es el uso de antimicrobianos en casos de cirugía para implantes o en cirugía de dientes retenidos, etc. También se los prescribe cuando se observa una herida o un traumatismo accidental con muchas probabilidades de infección posterior, por ejemplo una fractura del maxilar.

Otra aplicación corresponde a los pacientes considerados con riesgo de contraer infecciones ante cualquier maniobra que implique la vehiculización de gérmenes que podrían alcanzar el torrente circulatorio (véase cap. 22).

En el caso de la finalidad terapéutica el antimicrobiano se administra cuando ya está presente la enfermedad infecciosa, para lograr su resolución. Por ejemplo, en odontología se los utiliza en diversas enfermedades infecciosas de la mucosa oral, como se verá más adelante, y también en abscesos

peridontarios, en pacientes con enfermedad periodontal, etc. En esos casos suele recurrirse a las penicilinas más recientes o a las cefalosporinas, y cuando se trata de anaerobios estrictos, son de utilidad el metronidazol y el ornidazol. En algunas ocasiones se prescriben asociaciones (véase cap. 20).

Las vías de administración de los antibióticos a nivel general son varias y dependen del antibiótico, de la enfermedad y del tipo de paciente.

Según el caso es posible utilizar la vía intramuscular, intravenosa, intratecal o la intrarraquídea y también se los administra por vía oral.

En odontología es más común prescribir antimicrobianos por vía oral. Sin embargo, en los procesos severos es posible alcanzar más rápidamente los niveles adecuados en sangre por vía intramuscular. Los antimicrobianos se aplican localmente en casos de enfermedad periodontal (véase cap. 20) y en lavajes de senos u otras cavidades.

Para combatir virosis del tipo de las herpéticas se los indica para uso tópico.

No es aconsejable guiarse por la creencia de que un antibiótico de amplio espectro es mejor y "nos cubre de todo", pues de esa forma es posible producir una alteración de la microbiota normal.

Debe establecerse el diagnóstico etiológico y luego indicar el antibiótico más adecuado para ese agente infeccioso, en las dosis y durante el tiempo necesarios para salvar consecuencias secundarias.

En algunos casos es preciso solicitar un antibiograma o prueba de sensibilidad *in vitro* (véase cap. 31).

Resumen

Los antimicrobianos pueden ser sustancias naturales producidas por diversos microbios o compuestos de origen químico o semisintético con acción bacteriostática o bactericida sobre otros agentes infecciosos.

Estos fármacos se caracterizan por un mecanismo primario de acción que va a tener un "blanco" en la célula microbiana. Así, hay algunos antimicrobianos como las penicilinas, las cefalosporinas, la bacitracina, la vancomicina y la isoniacida que inhiben la síntesis de la pared celular y otros como la polimixina que alteran la membrana citoplasmática. La tetraciclina, el cloranfenicol y los aminoglucósidos interfieren sobre la síntesis proteica y se unen a la fracción 30S o 50S de los ribosomas. Otro mecanismo está dirigido a interferir sobre los ácidos nucleicos, como sucede con la rifampicina y, por último, hay sustancias que por ser similares químicamente a algunos metabolitos hacen que la bacteria las incorpore con su posterior alteración, como ocurre con las sulfamidas y el PAS.

Entre los antimicóticos existen compuestos eficaces para tratar lesiones superficiales, como la griseofulvina, la nistatina y otros, o bien, para combatir las micosis profundas, como la anfotericina B y los compuestos imidazólicos.

Algunos antimicrobianos, como las sulfas, ejercen su acción sobre algunos parásitos, mientras que un antiparasitario también es eficaz contra bacterias anaerobias, como el metronidazol. Además existen otros, como la cloroquina, que sólo se utilizan para determinada parasitosis.

Por último, los antivirales, mucho más cuestionados, incluyen sustancias que afectan la adherencia del virus o su replicación o que son análogos a los nucleótidos que el virus necesitaría.

Como ejemplos de antivirales, pueden citarse el aciclovir, el ganciclovir, la amantadina, la idoxurudina, la AZT y las sustancias polianiónicas.

La terapia antiinfecciosa no está exenta de reacciones adversas. Los riesgos más importantes son los fenómenos de resistencia y los efectos secundarios sobre el hospedero.

La resistencia puede ser natural o adquirida. Ésta a su vez puede ser espontánea o resultante de combinaciones con DNA extracromosómico de otras bacterias, adquirido por diversos mecanismos. Esto conduce a distintos mecanismos para evadir la acción del fármaco.

Para evitar los fenómenos de resistencia, entre otras cosas, los antimicrobianos deberían usarse en forma más restringida y específica.

Ciertos antimicrobianos pueden ser usados en combinación (asociados) para lograr una mejor acción (sinergismo). Si la acción no es mejor sino igual, se habla de indiferencia y si, por el contrario, disminuye el efecto de uno de ellos, se dice que hay antagonismo.

En odontología, al igual que en medicina general, estos compuestos se utilizan con dos finalidades: quimioproláctica y terapéutica.

Preguntas de revisión

1. ¿Podría definir qué es un antibiótico?
2. Cite tres formas de obtención de antimicrobianos.
3. ¿Qué efectos pueden poseer los antimicrobianos sobre los gérmenes?
4. ¿Qué mecanismos primarios de acción pueden tener estos compuestos?
5. Cite dos antimicrobianos como ejemplos de cada uno de los mecanismos de acción.
6. ¿Qué entiende por resistencia?
7. ¿Qué dos formas de resistencia de las bacterias puede citar?
8. ¿Por qué mecanismos pueden adquirir la resistencia las bacterias?
9. ¿Qué antibióticos son útiles para combatir micobacterias?
10. Si tuviera que combatir *Mycoplasma*, ¿qué tipo de antimicrobiano indicaría?
11. Mencione por lo menos tres antiparasitarios y los mecanismos de acción de dos de ellos.
12. ¿Cuáles podrían ser los mecanismos de acción de los antivirales?
13. Mencione por lo menos tres antivirales.
14. ¿Qué efectos adversos de los antimicrobianos conoce?
15. ¿Qué diferencia hay entre sinergismo, antagonismo e indiferencia?
16. ¿Qué antimicóticos conoce? ¿Puede citar el mecanismo de acción de dos de ellos?

Problema 12-1

En una muestra obtenida de una lesión periodontal, aguda, se observan bacterias en forma de cocos grampositivos, formas filamentosas grampositivas, bacilos gramnegativos y en los cultivos desarrollan distintas colonias de anaerobios.

Preguntas:

1. ¿Qué antibiótico o antibióticos indicaría? ¿Por qué?
2. Si su respuesta incluye varias opciones, indique qué mecanismo de acción tiene o tienen
3. ¿Se lograría mejor efecto utilizando más de un antibiótico?
4. ¿Cómo se denomina el efecto que se obtiene con esta asociación?

BIBLIOGRAFÍA

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 20: Antibióticos. En: *Microbiología médica*. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006; pp. 203-212.

Negróni M. Capítulo 11: Antimicrobianos, antimicóticos, anti-

parasitarios y antivirales. En: Negróni M. *Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 101-109.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Chapter 20: Antimicrobial drugs. In: *Microbiology. An Introduction*. 8th ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2004; pp. 559-580.

13

AGENTES FÍSICOS PARA EL CONTROL DE LOS MICROORGANISMOS

Alcira C. Rosa y María Inés González

Contenidos

Temperatura. Métodos por calor húmedo. Métodos por calor seco. Métodos por frío. Deseccación. Presión osmótica. Radiaciones. Radiaciones ionizantes. Radiaciones ultravioletas o no ionizantes. Agentes mecánicos. Ultrasonido. Cepillado o fregado. Filtración. Esterilización en el consultorio odontológico. Autoclave de vapor de agua con presión. Estufa de calor seco. Autoclave de compuestos químicos o quimiclave.

Objetivos

- Definir la terminología relacionada con la destrucción o la inhibición del crecimiento microbiano: esterilización y desinfección.
- Describir los métodos físicos utilizados para el control de los microbios.
- Enumerar y describir los métodos de esterilización usados en el consultorio odontológico.
- Describir ventajas e inconvenientes de los distintos procedimientos de esterilización usados en el consultorio odontológico.

INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal de los pacientes es la mayor fuente de infección a que los profesionales de la odontología están expuestos; por lo tanto, la *American Dental Association* (ADA) recomienda considerar a todos los pacientes que acuden a la consulta odontológica como portadores de agentes infecciosos.

Para una práctica preventiva y segura de la odontología es fundamental comprender los principios básicos de la esterilización y la desinfección para contribuir a evitar la infección cruzada.

Cuando una población de microorganismos es sometida a procesos de esterilización por calor, compuestos químicos o radiaciones, no todas las células mueren al mismo tiempo. El número de sobrevivientes disminuye exponencialmente con el tiempo de exposición hasta que no pueden detectarse más organismos viables.

Los microorganismos tienen distintos grados de resistencia a los procedimientos de esterilización y son los **priones** y luego los **esporos bacterianos** los más resistentes.

Los procedimientos físicos no sólo se utilizan para destruir a los microorganismos que provocan enfermedades, sino también para eliminar el crecimiento microbiano que conduce al deterioro de los alimentos, los medios de cultivo, etcétera.

La **esterilización**, que implica la muerte o la eliminación de todos los microorganismos, es el proceso de destrucción de todas las formas de vida, incluidos los esporos bacterianos (agentes infecciosos convencionales) que están presentes en un objeto o material.

En la actualidad con el mayor conocimiento de la resistencia de los priones (agentes infecciosos no convencionales) se incorporó el concepto de esterilización con nivel priónico.

La **desinfección** es el proceso de destrucción de las formas vegetativas de los patógenos, pero no necesariamente de los esporos o los priones.

Los **agentes físicos** para el control de los microorganismos son la **temperatura**, la **deseccación**, la **presión osmótica**, las **radiaciones** y los **agentes mecánicos** (cuadro 13-1).

Cuadro 13-1. Agentes físicos para el control de los microorganismos

Temperatura		
Métodos por calor húmedo	Métodos por calor seco	Métodos por frío
Pasteurización Ebullición Termodesinfección Vapor fluente o libre Vapor a presión	Incineración Flameado Esterilizador de botellas Estufa u horno de aire caliente	Refrigeración Congelación Liofilización
Desecación		
Presión osmótica		
Radiaciones		
Ultravioletas		Ionizantes
Agentes mecánicos		
Ultrasonido	Cepillado	Filtración

TEMPERATURA

El **calor** es un agente desinfectante simple, económico y eficaz que no deja residuos sobre los elementos tratados y que debería ser de primera elección cuando pudiera utilizarse, salvo con elementos termosensibles.

Los métodos más prácticos y seguros de esterilización emplean calor. Estos sistemas pueden dividirse en **métodos por calor húmedo y por calor seco**.

Métodos por calor húmedo

El **calor húmedo tiene un efecto mayor y más rápido** sobre los microorganismos, porque el agua es un buen conductor, con lo que **el calor penetra mejor y se distribuye más uniformemente**. El calor húmedo puede aplicarse como vapor de agua y destruye a los microorganismos por coagulación y desnaturalización de las proteínas y las enzimas.

Pasteurización

La pasteurización es un **proceso físico de desinfección** utilizado, principalmente, en la industria de la alimentación para preservar la leche, los jugos, la cerveza y el vino. El término "pasteurización" se adoptó en honor a Louis Pasteur, que diseñó un método para prevenir la descomposición de la cerveza y el vino. El método de Pasteur se basaba en el empleo de un calentamiento moderado que resultaba suficiente para destruir los microorganismos que causaban el deterioro sin alterar notoriamente el sabor del producto. Más tarde se

aplicó el mismo principio a la leche para producir lo que llamamos leche pasteurizada. Al comienzo la leche se pasteurizaba para lograr la eliminación de uno de los agentes causales de la tuberculosis y del agente responsable de la brucelosis. Muchos microorganismos relativamente resistentes al calor sobreviven a la pasteurización pero no constituyen una fuente probable de enfermedades; sin embargo, pueden producir deterioro de la leche refrigerada durante un tiempo razonable.

El tratamiento clásico de pasteurización de la leche consiste en el calentamiento de ésta a una temperatura de 62 a 63° C durante 30 minutos, seguidos de un enfriamiento rápido. Actualmente se emplean temperaturas mayores de 72 a 75° C, pero sólo durante 15 segundos. Este tratamiento se conoce como **pasteurización rápida**. Esta temperatura, que es más alta que la necesaria para destruir a los patógenos mencionados, reduce el número total de bacterias, de forma que la leche se mantiene por más tiempo bajo refrigeración.

Con la pasteurización se consigue la destrucción de la mayoría de las formas vegetativas de las bacterias y de la mayor parte de los virus, pero no de los agentes termófilos ni de las esporas.

Esta temperatura no esteriliza la leche pero destruye todas las bacterias productoras de las enfermedades comúnmente transmitidas por ella.

La leche puede **esterilizarse** mediante **ultra altas temperaturas (sistema UAT)**, de modo que pueda ser conservada sin refrigeración.

Ebullición

La ebullición es un método muy clásico para desinfectar ropas, cubiertos, etc. El agua que hier-

ve (100 °C a nivel del mar) durante 20 a 30 minutos destruye todas las formas vegetativas de las bacterias, muchos virus y algunos hongos. A la temperatura de ebullición el virus de la hepatitis B puede sobrevivir alrededor de 30 minutos y algunas esporas bacterianas han resistido durante más de 20 horas. Este método no puede ser considerado en ningún caso como un método de esterilización, sólo sirve como **desinfección**. Al eliminar la mayoría de los patógenos la ebullición deja los alimentos y el agua en condiciones seguras para el consumo.

Termodesinfección

Existen algunos procedimientos físicos de limpieza y desinfección del instrumental de aplicación en odontología.

En la actualidad la industria ofrece los termodesinfectores, que son el resultado de alta tecnología y brindan un producto de gran calidad en la recuperación del instrumental con menor riesgo para el operador.

Los termodesinfectores desinfectan, limpian y secan automáticamente instrumental metálico, material quirúrgico, material de vidrio, como cajas y accesorios.

Algunos pueden programarse con ciclos de desinfección solamente térmica a 93° C/10 minutos o químico-térmica a 65° C/10 minutos con el agregado y la dosificación de detergentes desinfectantes. Las temperaturas están sujetas a control electrónico y son seleccionadas automáticamente de acuerdo con el programa elegido.

Se han introducido en el mercado tanto aparatos de desinfección como aparatos combinados, con los que puede realizarse una desinfección por vapor a 105° C o una esterilización por vapor a 121 o 134° C.

También se han perfeccionado aparatos para la desinfección de piezas de mano y contraángulos, así como turbinas. Esta tecnología permite ahorros en el mantenimiento y facilita su manipulación por parte del operador.

Vapor de agua

El vapor de agua puede aplicarse **sin presión**, a 100° C (vapor fluente) o **con presión**, con lo que las temperaturas alcanzadas son mucho más altas.

Se utilizan aparatos especiales denominados **autoclaves**, de los que existen distintos tipos: automatizados y no automatizados. En estos últimos es aconsejable vigilar la operación continuamente para evitar accidentes. En los autoclaves más modernos es posible programar la combinación de

tiempo, temperatura y presión elegida, y funcionan de manera totalmente automática. En algunos puede programarse un ciclo de secado.

Aquí analizaremos los autoclaves convencionales o no automáticos que se utilizan generalmente en los laboratorios de microbiología; y los automáticos se verán en la sección dedicada a la esterilización en odontología.

El autoclave tipo Chamberlain o de laboratorio está constituido por una caldera de cobre de doble pared que en su parte inferior lleva una fuente calórica, ésta puede ser eléctrica o de gas. La parte superior lleva una tapa de bronce que posee los siguientes elementos:

- Termómetro: indicador de la temperatura.
- Manómetro: indicador de la presión interior.

A veces el termómetro y el manómetro se encuentran en un solo indicador y debe tenerse en cuenta la relación que existe entre ambos.

- Espita, que sirve para eliminar el aire frío durante el calentamiento y el vapor de agua, una vez terminado el proceso de esterilización.

- Válvula de seguridad, que permite el escape del vapor excedente cuando se sobrepasa la presión que puede soportar el autoclave.

La tapa se adapta a la caldera por medio de bulones móviles ajustados con tuercas de tipo mariposa. Entre ambos se ubica una junta o anillo de caucho con el que se obtiene un cierre hermético.

En el interior de la caldera hay un enrejado o lámina cribada sobre la cual se apoya el material a esterilizar, que de esta manera queda separado del agua.

El autoclave sirve para descontaminar instrumental metálico y material de vidrio contaminado, y para esterilizar material lavado y acondicionado, pero estos procedimientos deben realizarse en ciclos separados. Su manejo se detalla en el capítulo 31-7.

Vapor fluente o sin presión

El vapor fluente o sin presión se usa en el laboratorio de microbiología cuando se trata de esterilizar medios de cultivo que pueden alterarse a más de 100° C, como por ejemplo los que contienen diversos azúcares. Se colocan los elementos en el autoclave, se cierra bien la tapa pero se deja la espita abierta hasta que salga un chorro continuo de vapor y a partir de ese momento se deja actuar 30 minutos.

Vapor con presión en autoclave

Este es el método preferido para esterilizar líquidos, medios de cultivo, telas, material de vidrio, instrumental, etc. Cuanto mayor sea la presión en el autoclave, mayor será la temperatura, por ejemplo, cuando el vapor, a una temperatura de 100° C, se pone a la presión de 1 atmósfera sobre el nivel del mar, la temperatura se eleva hasta 121° C y se mantiene constante durante 20 minutos (esterilización con nivel esporicida).

Si, en cambio, la presión es de 2 atmósferas, la temperatura se eleva hasta 134° C y se mantiene durante 18 minutos (esterilización con nivel priónico avalada por la OMS).

Métodos por calor seco

Incineración

La incineración es el procedimiento de esterilización ideal para productos contaminados, que no importa que se destruyan, como por ejemplo apósitos, gasas, ropas contaminadas, material de anatomía patológica y animales de experimentación.

Puede recurrirse a la combustión directa o a los hornos pirolíticos que se utilizan para residuos patogénicos. El mismo principio se utiliza en los desintegradores de agujas, que funcionan a 1.000° C.

Flameado o fuego directo

El flameado es un método al que se recurre con frecuencia en el laboratorio de microbiología para esterilizar las ansas de siembra. Este método se basa en calentar el alambre al rojo con la llama de un mechero, lo que determina la incineración de los microorganismos tanto en su forma vegetativa como esporulada.

El flameado no da resultado cuando se aplica a superficies, porque no suele alcanzarse la temperatura suficiente.

También puede recurrirse al **flameado con alcohol**, que consiste en sumergir el elemento a tratar en alcohol, retirarlo y prender fuego al líquido excedente hasta que se consuma totalmente. Este método puede utilizarse para bandejas, pinzas de algodón, alicates de ortodoncia, etc., pero nunca se lo usará para instrumentos de corte o filo. En algunas ocasiones es necesario flamear pinzas, que han sido esterilizadas previamente por otro procedimiento y cuando el instrumento se va a reutilizar varias veces en el mismo paciente, esta maniobra asegura la desinfección y contribuye a mantener la cadena de asepsia durante el tratamiento. El flameado con alcohol no destruye las esporas.

Esterilizador de bolillas

Este aparato consiste en un recipiente cilíndrico que contiene bolillas de cuarzo o de vidrio de aproximadamente 1 mm de diámetro. Tiene termómetro y termostato; éste mantiene la temperatura constante. Actúa a 218° C durante 10 a 15 segundos.

Se lo utiliza especialmente para **descontaminar en forma rápida** el instrumental de endodoncia (limas, escariadores, espaciadores, etc.) y de periodoncia (sonda, curetas, punta morse, etc.) que debe volver a utilizarse en el mismo paciente, por ejemplo, en un tratamiento de conducto para no volver a usar una lima, en los distintos conductos de una misma pieza dentaria o para no medir la profundidad de la bolsa con la misma sonda en dos bolsas periodontales.

El instrumental debe estar limpio y desprovisto de restos orgánicos; para ello conviene realizar primero una limpieza mecánica con gasa estéril, de preferencia embebida con desinfectante (yodopovidona o hipoclorito), y luego introducir el instrumental en el esterilizador; así se obtiene una mayor eficacia.

Inconvenientes

- El efecto depende del diámetro de las bolillas y, por lo tanto, cuanto mayor sea éste, menor contacto tendrá con el instrumental.
- Puede haber un gradiente de temperatura que llegue hasta 56° C desde la base hasta la superficie; por lo tanto, el instrumental debe colocarse en el centro y a la mayor profundidad posible.
- El instrumental puede estar muy caliente y provocar una quemadura.
- No hay posibilidad de controlar la esterilidad.

Estufa de calor seco o esterilizador de aire caliente

Se trata de un horno cerrado en cuyo interior se consigue una temperatura determinada, mediante una resistencia eléctrica. Posee varios estantes para colocar los elementos a esterilizar.

El aire caliente **produce deshidratación** o coagulación de las proteínas, lo que lleva a la muerte de los microbios.

La esterilización por calor seco requiere temperaturas más elevadas y un período más prolongado de calentamiento que la esterilización con vapor.

Su uso se limita a la esterilización de instrumental metálico, material de vidrio y sustancias, tales como aceites o polvos que son impermeables al vapor (véase esterilización en odontología).

Métodos por frío

Se ha estudiado el efecto de las bajas temperaturas sobre los microorganismos; este efecto depende de las distintas especies microbianas y de la intensidad de su aplicación. Por ejemplo, a la temperatura normal de refrigeración (de 0 a 7° C) la actividad metabólica de la mayoría de los microorganismos se encuentra tan reducida que éstos no se reproducen ni elaboran sus productos. Por lo tanto, la **refrigeración habitual** tiene un efecto bacteriostático. Sin embargo, las especies psicrófilas (adaptadas al frío) crecen lentamente a la temperatura del refrigerador y pueden alterar la apariencia y el sabor de los alimentos después de un tiempo bastante largo.

Aunque parezca sorprendente, algunas bacterias pueden crecer a temperaturas de varios grados por debajo de la congelación. Cuando las temperaturas bajo cero se alcanzan rápidamente, los microorganismos pueden permanecer en un estado de latencia y no morir necesariamente. La congelación es más dañina para las bacterias cuando se realiza lentamente; los cristales de hielo que se forman y crecen rompen la estructura celular y molecular de los microorganismos.

Para la conservación de cultivos bacterianos en el corto plazo puede recurrirse a la refrigeración. Para mantener los cultivos durante largos períodos, normalmente se utilizan otros dos métodos: la congelación a muy bajas temperaturas (congelación profunda) y la liofilización.

La **congelación profunda** consiste en resuspender un cultivo puro de microbios en un medio líquido y congelarlo rápidamente a temperaturas que oscilan entre los -50 y los -95° C. Normalmente el cultivo puede descongelarse después de varios años y ser utilizado nuevamente.

La **liofilización** es un procedimiento de **congelación y deshidratación** que se emplea para mantener la viabilidad de los microorganismos durante largos períodos. Un cultivo puro de 18 o 24 horas se suspende en leche o suero esterilizados; se toma una pequeña porción (0,1 mL o menos) de esa suspensión y se la coloca en ampollitas. Éstas se colocan en hielo seco (-76° C) o se tratan con nitrógeno, donde se congelan inmediatamente. Una vez congelado el contenido de las ampollitas, se las conecta a un sistema de alto vacío. El agua se elimina con tal velocidad que pasa del estado sólido al vapor sin pasar por la fase líquida (**sublimación**). Las ampollitas se sellan mediante un soplete de gas. Los microorganismos viables conservan su antigenicidad y virulencia, y pueden ser usados como patrones estándares o como gérmenes de referencia.

DESECACIÓN

Los microorganismos necesitan agua para crecer y multiplicarse; por esa razón la desecación inhibe el desarrollo de las bacterias y puede producir la muerte de un gran número de ellas. Quedan sólo los esporos y los microorganismos más resistentes, como los estafilococos o el bacilo de la tuberculosis, que logran mantenerse viables durante meses. Algunos virus tienen cierta resistencia, igual que los quistes de protozoos y los huevos de los parásitos. Incluso en los productos desecados, por ejemplo en polvos, las bacterias resistirán durante algún tiempo, porque todavía queda un grado relativo de humedad.

En algunas zonas del interior de nuestro país todavía se utiliza la desecación para conservar los alimentos; por ejemplo en la Patagonia se "chasea" la carne (se la corta en rodajas, se la sala y se la cuelga al aire fresco). Otros ejemplos son las pasas de uva y otras frutas secas.

Como ya se ha dicho, en ausencia de agua (desecación) los microorganismos no pueden crecer y reproducirse, pero pueden mantenerse viables durante años. Después, cuando vuelvan a disponer de agua, podrán recuperar su capacidad de crecimiento y división.

PRESIÓN OSMÓTICA

Otra forma de conservar los alimentos es mediante la utilización de **altas concentraciones de sales y azúcar**. Esto se basa en los efectos de la presión osmótica. Las altas concentraciones de estas sustancias crean un **ambiente hipertónico** que hace que el agua salga de la célula microbiana. Este proceso se parece a la conservación por desecación, porque ambos métodos niegan a la célula la humedad necesaria para crecer. A medida que el agua sale de la célula microbiana la membrana plasmática se encoge y se separa de la pared celular (plasmólisis) y la célula detiene su crecimiento, aunque puede no morir inmediatamente. El principio de la presión osmótica **se emplea en la conservación de alimentos**. Por ejemplo, se utilizan soluciones de sal para curar carnes y azúcares para conservar frutas.

RADIACIONES

Existen dos tipos de radiaciones, a saber, las ionizantes y las no ionizantes.

Radiaciones ionizantes

Las radiaciones ionizantes son aquellas que ionizan las moléculas del material que las absorbe, especialmente enzimas y ácidos nucleicos. Un ejemplo de radiaciones ionizantes está dado por los rayos γ que poseen una longitud de onda más corta que las radiaciones no ionizantes (menor de 1 nm), transportan más energía y tienen alto poder de penetración.

Al penetrar en la bacteria estas radiaciones producen una **inactivación del genoma bacteriano y de las enzimas, lo que lleva a la muerte de la célula**. La fuente de radiación γ más utilizada es el cobalto 60.

Las radiaciones ionizantes permiten lo que se conoce como **esterilización en frío o radioesterilización**.

Se las emplea cuando el material a esterilizar es termosensible y se las aplica con fines industriales para la esterilización de artículos de un solo uso, tales como jeringas, agujas, suturas de catgut o de nailon, bisturís, guantes de cirugía, catéteres para uso intravenoso, tubuladuras de plástico, equipos de transfusión de sangre y también para medicamentos diversos, injertos de todo tipo, como huesos, cartílagos, y válvulas cardíacas para trasplantes y prótesis.

Este método es limpio, barato, cómodo y muy eficaz, pues destruye toda forma de vida.

Todos los artículos esterilizados por radiación deberían considerarse descartables o de un solo uso, dado que podrían aparecer efectos adversos si luego de su utilización se los reesteriliza.

Radiaciones ultravioletas o no ionizantes

Las radiaciones no ionizantes, como la luz ultravioleta (UV), tienen una longitud de onda mayor que las radiaciones ionizantes (en general superior a 1 nm).

La muerte de los microorganismos a causa de la luz UV implica mutaciones letales o modificaciones químicas en el DNA suficientes como para causar la muerte del microorganismo, ya que interfieren sobre las replicaciones posteriores.

Estas radiaciones pueden producirse artificialmente con lámparas de mercurio, pero su energía es baja y su poder de penetración es muy escaso. No atraviesan los materiales empaquetados ni tampoco el vidrio y el plástico. No penetran en sólidos y muy poco en líquidos; por esta razón sólo son eficaces en las superficies o en las primeras capas de los materiales. Para que el tratamiento resulte eficaz, la bacteria debe ser expuesta en forma directa a la radiación UV.

Las radiaciones no ionizantes se utilizan para disminuir las infecciones cruzadas originadas por los microorganismos presentes en el aire del ambiente, dentro de zonas hospitalarias determina-

das (quirófanos y salas de prematuros). También se las usa en salas de envase de medicamentos, tales como los antibióticos, en los lugares en los que se preparan vacunas, en cabinas de siembra en laboratorios y en los convertidores de residuos patogénicos, etcétera.

Debe recordarse la necesidad de proteger la piel y los ojos durante su aplicación.

AGENTES MECÁNICOS

Ultrasonido

Hay aparatos de ultrasonido para la limpieza del instrumental. Estos aparatos contienen una cubeta de acero inoxidable que se llena con un líquido apropiado y en su interior se colocan los elementos que van a limpiarse. Utilizan osciladores piezoeléctricos situados debajo de la cubeta para crear en el líquido **oscilaciones que se transforman en ondas ultrasónicas**, que no son percibidas por el oído humano.

Estas ondas crean burbujas muy pequeñas (ebullición en frío) que desprenden la suciedad de la superficie de los objetos.

El ultrasonido es para la limpieza de artículos pequeños, como fresas, piedras e instrumental de endodoncia.

El efecto sobre los microorganismos consiste en la ruptura de algunas células, lo que disminuye parcialmente el número; pero por este motivo es un limpiador y es posible modificar este efecto, si el contenido del líquido empleado en el ultrasonido posee nivel tuberculicida y virucida (véase cap. 11).

Según como se las haga actuar, las ondas ultrasónicas tienen aplicación en microbiología para romper bacterias y obtener los antígenos, las enzimas y los demás componentes de su interior.

Sin embargo, el ultrasonido es un **simple proceso de limpieza** y no puede sustituir a la esterilización.

Cepillado o fregado

Otro **método mecánico** es el cepillado, que consiste en frotar con paños o cepillos, con agua y algún agente químico, como el jabón o un detergente, para la eliminación mecánica de la suciedad de las manos, las heridas, el instrumental, el mobiliario, los pisos, etcétera.

Filtración

La filtración es el pasaje de un líquido o un gas a través de un material filtrante **con poros lo sufi-**

cientemente pequeños como para retener microorganismos.

El proceso de filtración difiere de otros métodos en que los contaminantes son removidos pero no destruidos. El método tiene la ventaja de que es rápido y es aplicable para soluciones que contienen componentes termolábiles.

En los comienzos de la microbiología se utilizaban filtros cilíndricos en forma de vela, de porcelana no vitrificada. El pasaje de los líquidos a través de las paredes del filtro adsorbía las bacterias. Los patógenos desconocidos que pasaban a través de esos filtros (y que causaban enfermedades tales como la rabia) se denominaban virus filtrables.

Actualmente se utilizan las filtraciones clásica, de membrana y aérea.

En la **filtración clásica** se emplean discos de amianto, de asbesto o de acetato de celulosa con porosidad uniforme que se colocan en portafiltros Seitz. Luego se crea un vacío en el frasco receptor kitasato (véase cap. 31-1) que ayuda a aspirar el líquido a través del filtro. Los discos se descartan después de un solo uso.

La filtración, que se lleva a cabo para esterilizar materiales sensibles al calor, como por ejemplo algunos medios del cultivo, soluciones azucaradas, suero, saliva, enzimas, vacunas y soluciones de antibióticos, es útil para obtener líquidos estériles o aislar, e identificar microorganismos del aire y el agua.

La filtración clásica es un método muy importante para la purificación del agua potable.

En los últimos años los **filtros de membrana**, compuestos por sustancias como ésteres de celulosa o polímeros plásticos, se han vuelto muy frecuentes en la industria y el laboratorio.

Estos filtros tienen sólo 0,1 mm de espesor. Los poros de los filtros de membrana poseen tamaños

de 0,22 y 0,45 μm diseñados para retener bacterias. Otros miden 0,01 μm y retienen virus, e incluso algunas moléculas de proteínas.

Después del filtrado los filtros pueden colocarse sobre un medio de cultivo para realizar a posteriori el recuento de las colonias crecidas y llevar a cabo la identificación para establecer la efectividad del filtro.

Filtración aérea

Los filtros de flujo laminar, con base en láminas de acero y poliestireno, no permiten el paso de partículas mayores de 0,3 μm y por ese motivo el aire impulsado a través de ellos es prácticamente estéril. Esto significa el paso unidireccional y en láminas de un aire limpio y climatizado a temperatura, humedad y velocidad controlables.

Los **filtros de aire particulados de alta eficacia** (HEPA, del inglés *high-efficiency particulate air filters*) eliminan a casi todos los microorganismos de un diámetro superior a los 0,3 μm y pueden ser de tipo horizontal o vertical. Estos filtros son muy útiles en los quirófanos y en salas de pacientes sometidos a un estricto aire purificado, como los niños prematuros, los individuos quemados y los pacientes bajo tratamiento inmunosupresor, entre otros.

ESTERILIZACIÓN EN EL CONSULTORIO ODONTOLÓGICO

La correcta aplicación de los métodos de esterilización es fundamental para la prevención de la infección cruzada en el consultorio odontológico (véase cap. 29). Lo ideal sería que todos los elementos usados fueran estériles.

Los procedimientos de esterilización deben reunir ciertos requisitos, a saber:

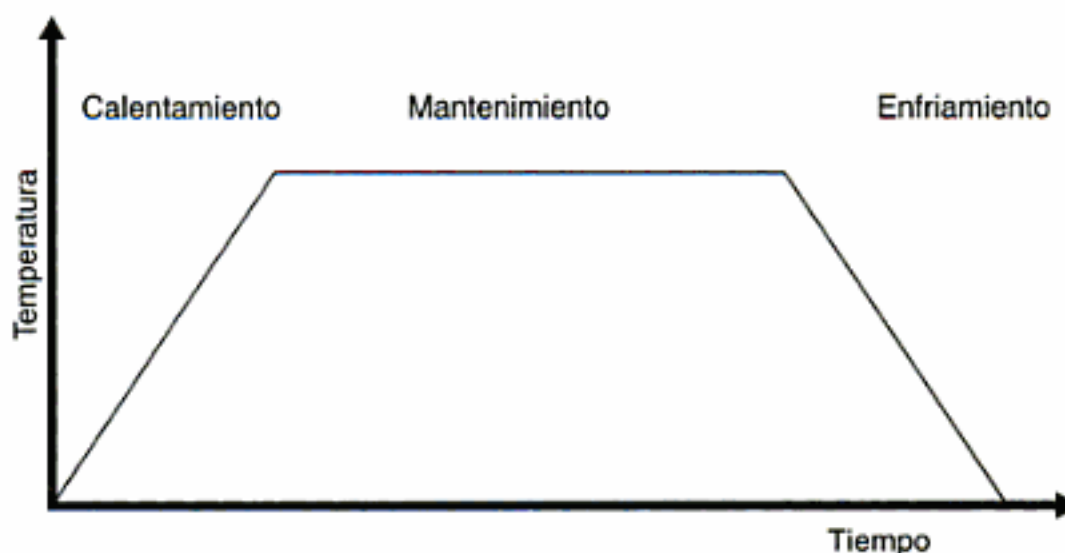


Fig. 13-1. Etapas de un ciclo completo de esterilización.

Cuadro 13-2. Calor húmedo con vapor de agua

Temperatura	Presión	Tiempo de mantenimiento
134° C	30 psi * = 2 atm	18 minutos
121° C	15 psi * = 1 atm	20 minutos

* psi = medida de presión: libras por pulgada cuadrada (sigla en inglés, *pound square inch*).

- Deben ser simples pero eficaces.
- Deben ser de corta duración para que sea posible disponer rápidamente de los instrumentos y los materiales estériles.
- No deben alterar el instrumental ni los materiales.
- No deben contaminar el ambiente.

Por estos motivos la temperatura y el tiempo de esterilización son muy importantes, dado que ambos factores determinan la eficacia del método de esterilización empleado.

En odontología la esterilización puede lograrse con tres métodos:

- Autoclave de vapor de agua con presión.
- Estufa de calor seco.
- Autoclave de compuestos químicos.

El ciclo de esterilización completo (véase fig.13-1), sea en autoclave o en estufa, consta de tres etapas:

- Tiempo de calentamiento (desde que se enciende el equipo hasta que llega a la temperatura de esterilización).
- Tiempo de mantenimiento (durante el cual la temperatura debe mantenerse constante).
- Tiempo de refrigeración (en el que los parámetros de temperatura y/o presión vuelvan a los niveles o valores iniciales).

Autoclave de vapor de agua con presión

Éste debería ser el método de elección y el más común para la esterilización del instrumental odontológico. Se trata de un método muy eficaz, porque el vapor tiene buena penetración y, por lo tanto, el tiempo de esterilización es más corto y se requiere menor temperatura que para el calor seco.

Actualmente se recomiendan dos combinaciones diferentes de temperaturas y tiempos de mantenimiento que posibilitan un ciclo de esterilización correcto en autoclave (cuadro 13-2). A estos tiempos hay que sumarles el tiempo de calentamiento y el tiempo de refrigeración.

Como ya fue mencionado, se programan a 134° C a 2 atm o 30 PSI (del inglés *Pounds Square Inch*) durante 18 minutos y 121° C a 1 atm o 15 PSI durante 20 minutos.

También existen ciclos rápidos o *flash* a 134° C durante 3 o 10 minutos, dependiendo si el instrumental esté desenvuelto o envuelto.

Existen distintos tipos de autoclaves automáticos para consultorio: pequeños, de carga frontal y de *cassette*.

Autoclaves pequeños portátiles

Son similares a una olla de presión. Funcionan en forma parecida a los autoclaves tipo Chamberlain pero son eléctricos y automáticos. Tienen control electrónico de la temperatura, la presión y el tiempo de esterilización. Algunos modelos poseen ciclo de secado.

Como estos autoclaves no se asocian con riesgo de sobrecalentamiento, producen menor deterioro del instrumental.

Están diseñados especialmente para esterilizar piezas de mano de turbinas y micromotores, y para descontaminar el instrumental odontológico antes de su lavado (fig. 13-2).

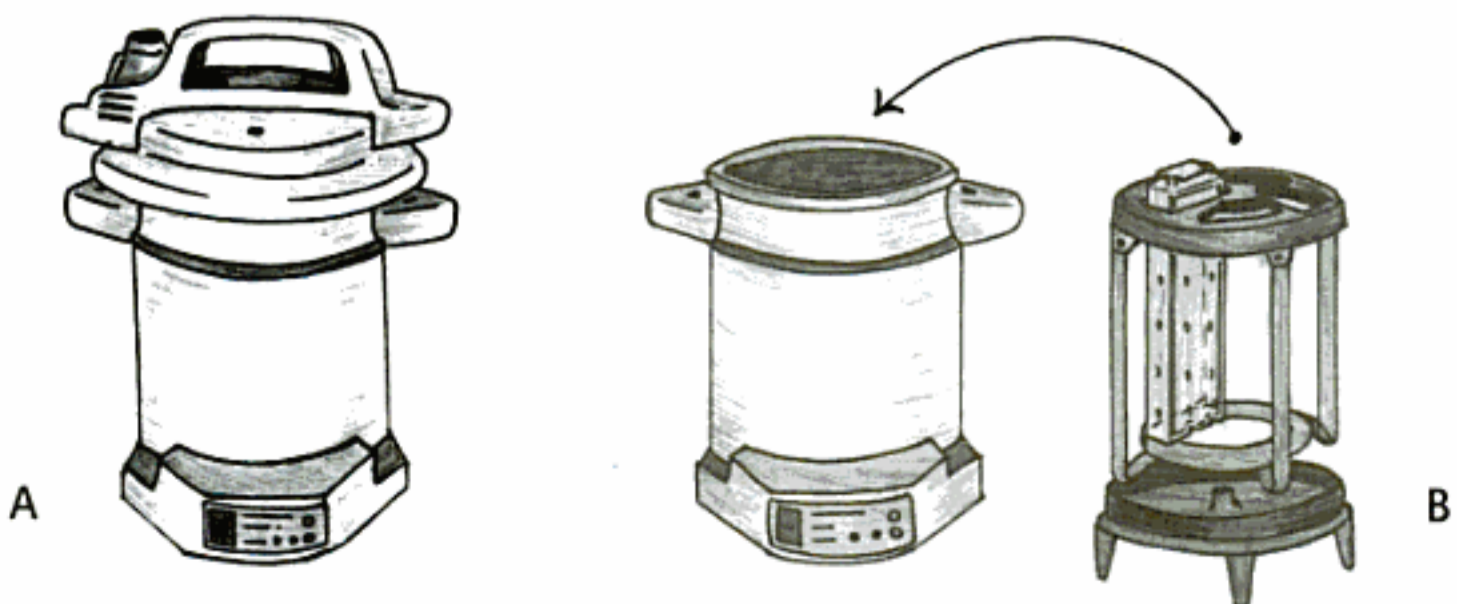


Fig. 13-2. Autoclave automático portátil. A. Cerrado. B. Abierto y soporte para canastillas.

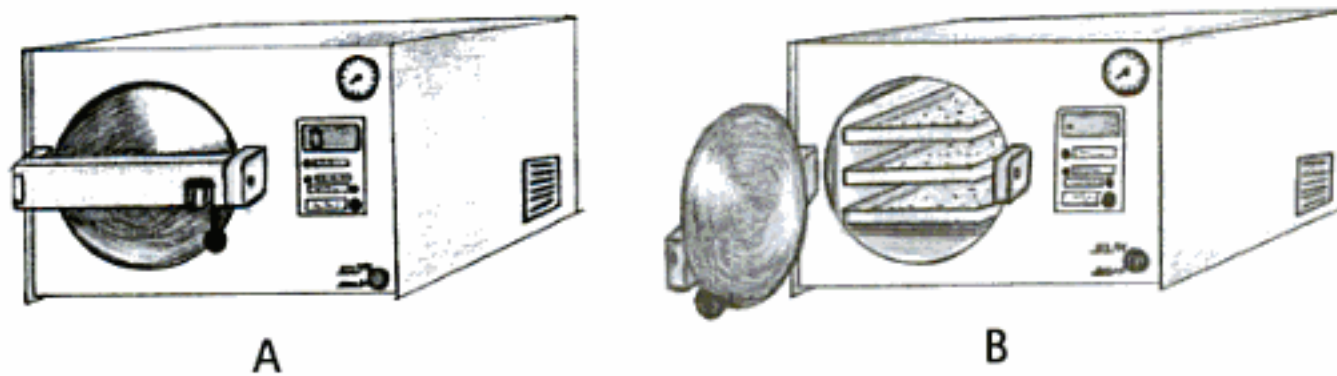


Fig. 13-3. Autoclave de carga frontal. A. Cerrado. B. Abierto; pueden visualizarse los estantes perforados.

La mayor desventaja de estos autoclaves es que puede quedar aire atrapado en el interior de los paquetes porque no cuentan con bombas de extracción del vapor.

Autoclaves de carga frontal

Estos autoclaves, que están perfectamente automatizados, son controlados por un microprocesador, poseen una bomba de vacío que elimina el aire de la cámara y del interior de los paquetes antes de la entrada del vapor. Además, al final del ciclo, una bomba extrae todo el vapor; por lo tanto, no es necesario el secado posterior.

Los autoclaves de carga frontal constan de distintos programas para esterilizar instrumental envuelto o sin envolver, líquidos, textiles, etcétera y presentan una gran capacidad interna respecto del escaso volumen exterior que ocupan. Poseen estantes perforados para facilitar la circulación del vapor y una traba que impide que la puerta se abra mientras la cámara está presurizada (fig. 13-3). En algunos es posible incorporar una impresora de control de los parámetros de presión y temperatura.

Autoclave de cassette

Estas autoclaves tienen un *cassette* que es multifuncional, dado que hace las veces de una cámara de esterilización al ser insertado en el autoclave, y funciona como bandeja de instrumental al extraerlo del equipo y como caja de almacenamiento.

Este autoclave realiza ciclos rápidos por su diseño, especialmente por las finas paredes del *cassette* que facilitan el proceso de calentamiento.

Utiliza un inyector a presión que hace expulsar el 98% del aire existente dentro del *cassette* antes de iniciar el ciclo. Este aire es el que causa la oxidación del instrumental en los autoclaves convencionales. La rapidez con la que se calienta y se

enfía hace que el instrumental esté expuesto durante muy poco tiempo a la humedad.

Tiene una bomba incorporada que seca automáticamente la cámara de esterilización después de cada ciclo.

Todo el ciclo, inclusive la presión, es controlado y regulado automáticamente por un microprocesador. Es útil para piezas de mano.

Si se dispone de varios *cassettes*, se podrá recuperar el instrumental entre cada paciente.

Ventajas de los esterilizadores de vapor de agua para consultorio

- Corto tiempo de esterilización.
- Buena penetración a través de la tela y el papel, por lo que resultan útiles para lencería quirúrgica.
- Pueden esterilizarse líquidos. Estos esterilizadores mantienen la integridad de los líquidos, incluidos los lubricantes de las piezas de mano.
- No dejan residuos tóxicos.
- Pueden usarse en objetos sensibles al calor.
- No emiten olores.
- Existen modelos manuales y automáticos manejados por microprocesador.
- La mayoría de los equipos permiten ciclos con distintas combinaciones de presión y temperatura.
- En los autoclaves con ciclo de secado el instrumental sale seco.
- Son fáciles de operar.

Desventajas de los esterilizadores de vapor de agua para consultorio

- Algunos exigen un secado posterior en estufa, ya que el instrumental sale húmedo.
- Posible corrosión de la mayoría de los metales a causa de la humedad dentro de la cámara.

Cuadro 13-3. *Calor seco*

<i>Temperatura</i>	<i>Tiempo de mantenimiento</i>
160° C	2 horas
170° C	1 hora

- Pérdida del filo en los instrumentos cortantes y del azogue en los espejos.
- Son equipos más costosos que la estufa de calor seco.

Requisitos ideales de los esterilizadores de vapor de agua para consultorio,

- El esterilizador debe tener un ciclo automático preestablecido.
- Este último debe alcanzar como mínimo dos combinaciones de presión y temperatura.
- Debe tener indicadores de presión y temperatura separados. No es aceptable un único medidor.
- El reservorio de agua debe ser de fácil drenaje y accesible para la limpieza.
- La tapa debe cerrarse con mecanismos de cierre adecuados.

Estufa de calor seco

La esterilización con calor seco implica el calentamiento del aire y la transferencia de la energía calórica al instrumental. Esta forma de esterilización requiere que se alcancen temperaturas más elevadas que las del vapor de agua o vapor químico. El calor seco no penetra tanto y es menos efectivo que el calor húmedo. Se necesitan temperaturas más elevadas y tiempos más prolongados de calentamiento y mantenimiento.

Los esterilizadores con calor seco funcionan entre 160 y 190° C, según el tipo de aparato. La principal ventaja del calor seco es que el instrumental de acero al carbono no se corroe, como ocurre con la esterilización por vapor.

En odontología la estufa de calor seco ha sido muy utilizada, si bien en la actualidad existe una tendencia a sustituirla por el autoclave.

Cuadro 13-4. *Métodos de desinfección y esterilización*

<i>Desinfección</i>	<i>Esterilización</i>
Pasteurización	Vapor de agua con presión
Ebullición	Estufa de calor seco
Termodesinfección	Vapor químico o quimiclave
Vapor de agua sin presión o vapor fluyente	Radiación gamma
Radiación ultravioleta	

Hay dos tipos de estufas: con aire estático y con aire forzado.

Esterilizadores con aire estático

Estos esterilizadores tienen una resistencia por donde circula la corriente eléctrica capaz de producir el calor que alcanzará el interior de la cámara. La energía calórica proveniente del aire estático es transferida al instrumental y la esterilización ocurre después de dos horas a 160° C. Es muy importante que estas unidades sean sometidas a pruebas o controles con esporos para determinar el tiempo apropiado de exposición con las condiciones de uso (validación del equipo).

El tiempo de calentamiento varía de acuerdo con la calidad y la cantidad de la carga, y el de mantenimiento comienza cuando se ha alcanzado la temperatura apropiada (p. ej. 160 °C). Entonces, el instrumental es sometido a esta temperatura durante el tiempo necesario (véase cuadro 13-3). Una vez alcanzada la temperatura de esterilización, la puerta de la cámara no debe abrirse, por ejemplo para agregar instrumental. Si se abriera la puerta durante el ciclo la temperatura descendería y habría que iniciar nuevamente todo el proceso. Es preciso seguir cuidadosamente las instrucciones del fabricante en lo que se refiere al funcionamiento y la carga de estos esterilizadores.

El tipo de material usado para el envoltorio debe ser apto para soportar temperaturas elevadas (véase cap. 31-7).

Ventajas

- El instrumental queda seco al finalizar el ciclo.
- Permiten esterilizar instrumental fabricado con metales que no son de acero inoxidable.
- Pueden colocarse cajas cerradas y envoltorios no porosos.
- No desafilan ni oxidan los instrumentos.
- Su costo es significativamente menor que el de los autoclaves.
- Su tamaño es relativamente pequeño.
- Son fáciles de usar.
- Requieren muy pocos cuidados y mantenimiento.
- Las estufas con aire estático son más económicas que las de aire comprimido.

Desventajas

- Ciclo prolongado de esterilización y a altas temperaturas.
- Menor disponibilidad del instrumental.
- No esterilizan líquidos.

- No son adecuados para materiales sensibles al calor, como lencería quirúrgica, gasas, algodón, etcétera.
- Pueden abrirse e interrumpir el ciclo.
- La temperatura habitualmente utilizada puede afectar artículos de plástico, goma, papel, soldaduras, etcétera.
- El instrumental puede oscurecerse y perder el aspecto brillante.
- No es posible utilizarlos para las piezas de mano.

Esterilizador con aire comprimido o forzado

En estos esterilizadores el aire caliente circula a gran velocidad dentro de la cámara. Esto permite una rápida transferencia de calor al instrumental, lo que reduce el tiempo necesario para esterilizar. Cuando la temperatura alcanza los 190° C el tiempo de mantenimiento comienza en forma automática y oscila entre 12 minutos para el instrumental envuelto y sólo 6 minutos para los elementos que no están empaquetados. En estos esterilizadores (como en los anteriores) también hay que mantener la puerta cerrada, usar envoltorios adecuados, realizar controles sistemáticos con esporos y seguir las indicaciones del fabricante para determinar la carga y el funcionamiento.

Requisitos ideales de las estufas de calor seco

- Sistema de cierre automático de la puerta, de forma que no puedan abrirse para agregar o retirar objetos durante el ciclo.
- Ventilador interno para distribuir el calor en forma uniforme.
- Control de temperatura automático.
- Indicador de la temperatura interna.

Autoclave de compuestos químicos o quimiclave

Estos aparatos utilizan soluciones de alcoholes y acetonas con escasa cantidad de agua que al evaporarse por acción del calor generan un fenómeno fisicoquímico responsable de la acción microbicida.

Un aspecto positivo del vapor químico es que disminuye la corrosión del acero al carbono. La cantidad de agua presente está por debajo del nivel que causa corrosión. Como la solución química usada se evapora rápidamente con el calor, los elementos procesados a través de este esterilizador quedan secos.

Ventajas

- Disponibilidad rápida de instrumental seco.
- Ciclo más corto que las estufas de calor seco.
- Falta de corrosión u oxidación de instrumental y fresas.
- Evita el desafilado de los instrumentos.
- No requiere un ciclo de secado posterior.
- Permite esterilizar objetos sensibles al calor.
- Imposible interrumpir el ciclo.

Desventajas

- Es necesario utilizar líquidos especiales, expedidos por el fabricante.
- Daña plásticos y gomas.
- No es posible esterilizar líquidos.
- No debe usarse para descontaminar instrumental sucio, porque la materia orgánica se fija.
- Los envoltorios de tela pueden absorber las sustancias químicas.
- Necesitan ventilación adecuada para dispersar los vapores residuales.

Resumen

Esterilización es un término que debería ser absoluto, no hay niveles de esterilidad; la esterilización implica la muerte de agentes infecciosos, con inclusión de los esporos microbianos y priones.

El principal método de esterilización utilizado en odontología es el calor húmedo con vapor de agua con ciclo de secado, y no son aconsejados el calor seco y el calor húmedo con agentes químicos.

El calor húmedo es más penetrante y, en consecuencia, el tiempo de esterilización es menor que el requerido por el calor seco.

La correcta esterilización del instrumental es una de las medidas que se mencionan dentro de las precauciones universales para evitar la infección cruzada.

En el cuadro 13-4 se resumen los distintos métodos de desinfección y esterilización.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué diferencia existe entre desinfección y esterilización?
2. ¿Qué métodos de desinfección física conoce?
3. ¿Qué métodos de esterilización conoce?
4. ¿Qué es la pasteurización? ¿Cuáles son sus utilidades?
5. ¿A qué temperatura y durante cuánto tiempo se esteriliza en estufa de calor seco y a partir de qué momento se registra el tiempo?
6. ¿A qué temperatura y durante cuánto tiempo se esteriliza en autoclave con presión de agua y a partir de qué momento se registra el tiempo?
7. ¿Qué elementos pueden esterilizarse en estufa de calor seco?
8. ¿Qué elementos pueden esterilizarse en autoclave con presión de agua?
9. ¿Qué elementos pueden esterilizarse en autoclave de compuestos químicos?
10. ¿Para qué se utiliza la incineración?
11. ¿Para qué se utilizan las radiaciones gamma?
12. ¿Qué desventajas tiene el uso de la luz ultravioleta?
13. Mencione las ventajas y las desventajas del uso de la estufa de calor seco.
14. Mencione las ventajas y las desventajas del uso del autoclave de vapor de agua.
15. Mencione las ventajas y las desventajas del uso del autoclave de compuestos químicos.
16. Explique qué es y para qué sirve el flameado con alcohol.
17. ¿Qué son los filtros de flujo laminar y para qué se utilizan?
18. ¿Qué utilidad tiene el ultrasonido?
19. ¿Qué es el purgado del autoclave y para qué sirve?

Problema 13-1

El Dr. Alfredo López Pérez debe esterilizar la pieza de mano y el resto del instrumental para la próxima jornada de trabajo, pero llega un paciente con una urgencia y no tiene instrumental para atenderlo.

Preguntas:

1. ¿Cómo y dónde puede esterilizar rápidamente el instrumental?
2. ¿Qué ventajas e inconvenientes tiene este método?
3. ¿Cuál sería el procedimiento ideal de esterilización?

BIBLIOGRAFÍA

- Leyva García A, Baca García P, Liébana Cabanillas JM. Desinfección y esterilización. Mecanismos de acción de los agentes físicos y químicos frente a los microorganismos En: Liébana Ureña J. Microbiología oral. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana, 2004; pp. 267-75.
- Magariños MC. Esterilización y desinfección En: Basualdo JA, Coto CE, Torres RA. Microbiología biomédica. Bacteriología, micología, virología, parasitología e inmunología. Buenos Aires: Atlante, 2006; pp. 100-121.
- Malagamba ML (1999) Guías y recomendaciones para la esterilización y desinfección. Rev. Infect. Microbiol. Clin. 11(3): 60-70.
- Miller CH, Palenic CJ: Procesado del instrumental. En: Control de Infección y manejo de materiales peligrosos para el equipo de profesionales de salud dental, Madrid: Ediciones Harcourt SA, 2000; pp. 135-174.
- OMS. Desinfección y esterilización en Manual de Bioseguridad en el laboratorio. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1994; pp. 64-75.
- Rosa AC, González MI. Agentes físicos para el control de microorganismos. En: Negroni M. Microbiología estomatológica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana SA, 1999; pp. 111-23.
- Rosa AC, Molgatini SL. Esterilización. Instrucciones generales para enviar el material e instrumental a la central de esterilización. Folleto Institucional FOUBA 2005; 1-10.
- Rosa AC, Molgatini S. Control de la infección en operatoria dental. En: Lanata EJ. Operatoria dental. Estética y adhesión. Buenos Aires: Editorial Grupo Guía, 2003; pp. 67-77.
- Rosa AC, Molgatini SL, Piovano S, Marcantoni, M. Control de la infección en Odontología. 1ª parte. Boletín de la Asoc. Arg. de Odontología para Niños. 2001; 30(1):11-15.
- Rosa AC, Molgatini SL, Piovano S, Marcantoni, M. Control de la infección en Odontología. 2ª parte. Boletín de la Asoc. Arg. de Odontología para Niños. 2001; 30(2):18-23.
- Rosa AC, Molgatini SL, Piovano S, Marcantoni, M. Control de la infección en Odontología. 3ª parte. Boletín de la Asoc. Arg. de Odontología para Niños. 2001; 30(3):17-21.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Control del crecimiento microbiano. En: Introducción a la Microbiología. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana SA, 2007; pp. 187-213.

PARTE II

II

INMUNOLOGÍA

GENERALIDADES SOBRE LA INMUNIDAD E INMUNIDAD INNATA

Kumiko Eiguchi

Contenidos

Inmunidad. Inmunidad innata o inespecífica. Mecanismos de la respuesta inespecífica. Quimiocinas y receptores de quimiocinas. Fagocitosis y lisis. Sistema del complemento. Vías de activación. Regulación. Alteraciones. Estudio del complemento. Cuadro inflamatorio agudo.

Objetivos

- Introducir al lector en los conceptos básicos de la inmunidad, especialmente de la inmunidad innata.
- Mencionar los diferentes elementos que intervienen en los mecanismos de defensa innatos como las barreras naturales, células que intervienen en la inmunidad innata, moléculas de adhesión, quimiocinas.
- Describir los mecanismos de fagocitosis y lisis, alcances y significados.
- Citar la importancia del sistema de complemento, sus vías de activación, regulación y estudio de éste desde su importancia clínica.
- Aplicar dichos conocimientos en un caso clínico.

INTRODUCCIÓN

La Inmunología se inició como una rama de la Microbiología y se desarrolló a partir de los estudios de las enfermedades infecciosas, la respuesta del organismo hacia los agentes patógenos y la inmunoprolifaxis a través del desarrollo de vacunas. Se considera padre de la Inmunología a Edward Jenner, quien publicara por primera vez, en 1798, los resultados de protección contra la viruela en pacientes inoculados con material de vaccinia (viruela del ganado); de esta forma sentó las primeras bases inmunológicas. Un siglo después Luis Pasteur aplicó estos conocimientos y realizó, en 1885, los primeros ensayos con la vacuna antirrábica en humanos, previos hallazgos y utilización de otras vacunas en animales (p. ej.: contra el cólera y el carbunco). Los grandes adelantos tecnológicos permitieron avanzar en el conoci-

miento de los mecanismos inmunológicos moleculares abriendo el campo a la comprensión de la fisiopatología de enfermedades inmunológicas, de los mecanismos de la respuesta inmune y su regulación generando nuevos blancos terapéuticos y nuevas herramientas farmacológicas.

Ante el ingreso de un microorganismo o sustancia extraña, el organismo cuenta con la inmunidad innata o inespecífica y la respuesta adaptativa o específica que se relacionan entre sí a través del lenguaje molecular representado por sustancias conocidas como citocinas, quimiocinas y moléculas de adhesión entre las más importantes.

El avance en el conocimiento de ese lenguaje lleva a ensayar una nueva definición de la Inmunología; puede decirse que la inmunología es la ciencia que estudia el **reconocimiento de lo propio, los fenómenos de tolerancia y la respuesta a lo no propio y su regulación.**

INMUNIDAD

El sistema inmune tiene, como función esencial, combatir diferentes microorganismos que pueden provocar infecciones extracelulares o intracelulares, para lo cual se activan mecanismos humorales o celulares en los que participan distintas células (linfocitos, fagocitos, inflamocitos) y moléculas (complemento, anticuerpos, citocinas, mediadores de la inflamación, etc.) según el caso.

La inmunidad es considerada como el **estado de protección o resistencia contra distintas enfermedades infecciosas**. Desde este concepto podemos hablar de **inmunidad innata o inespecífica**, que comprende los mecanismos básicos de resistencia que cada uno posee al nacer, e **inmunidad específica o adaptativa**, que involucra los mecanismos de reconocimiento, activación y respuesta del sistema inmune con células (linfocitos T) y proteínas (anticuerpos) específicas frente a una sustancia extraña denominada *antígeno* (Ag).

Inmunidad innata o inespecífica

La inmunidad innata es el **estado de protección o resistencia que cada individuo tiene al nacer**, por su capacidad de reconocer patrones moleculares conservados comunes a distintos grupos o familias de microorganismos patógenos y destruirlos, sin que haya existido un contacto previo con ellos. Estos patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) son reconocidos por receptores (**receptores de reconocimiento de patrones: RRP**) que se encuentran ampliamente **distribuidos en las células fagocíticas**. A diferencia de la inmunidad adaptativa o específica no reconoce a un patógeno en particular, ni tiene la especificidad característica de ésta; por ello es que también se la conoce como inespecífica.

Se consideran, en este tipo de inmunidad, diferentes mecanismos celulares y humorales que responden de **forma inmediata**, mientras generan señales para la producción de respuestas tardías hasta que responda la inmunidad específica.

Entre los elementos y mecanismos innatos de protección o resistencia podemos considerar los siguientes:

Barreras naturales

Piel: la piel con su capa de queratina es una barrera física. Posee glándulas sudoríparas que secretan el sudor cuyo pH impide la supervivencia de muchas especies microbianas y glándulas sebáceas que producen ácidos grasos de cadena corta (pH 3-5) que impiden el desarrollo bacteriano.

Membranas mucosas: la microbiota (antes conocida como flora) normal de las mucosas compete con los gérmenes patógenos por el sitio y los nutrientes. El *mucus* es capaz de atrapar microorganismos y las *cilias* propulsan la eliminación de gérmenes hacia el exterior (movimiento ciliar), posee en su composición **mucinas secretadas por células epiteliales (MUC1 a MUC8) y oligosacáridos**. Tiene una **permeabilidad selectiva** que permite excluir toxinas y patógenos. Pueden encontrarse productos de secreción como enzimas proteolíticas, p. ej.: la *alfa antitripsina*, que inhibe las proteasas de origen leucocitario y bacteriano; la *lactoferrina* que tiene acción microbicida por competencia con el hierro o lítica sobre las paredes de algunas bacterias o parásitos, estimula la actividad microbicida de los fagocitos y es inmunomoduladora positiva de las células citotóxicas naturales o *natural killer* (NK); *lisozima*, sistema de *cininas* y otras. En el pulmón se encuentra la *proteína surfactante pulmonar A* (SFTPA), que actúa como ligando de moléculas de la pared de diferentes bacterias. SFTPA es crítica para la protección de agentes infecciosos y la respuesta temprana ante la exposición de agentes medioambientales. Neutraliza al virus sincicial respiratorio, aumenta la fagocitosis y sería importante su acción inmunomoduladora al unir aeroalergenos, incluyendo extractos inhalados de ácaros.

Boca: saliva, lisozima, enzimas.

La **lisozima**, llamada así por Alexander Fleming, el descubridor de la penicilina, también es conocida como **muramidasa**. Es una enzima presente en la mayoría de los tejidos y secreciones mucosas, en las lágrimas, moco nasal y en la saliva. Es **producida principalmente por los polimorfonucleares** y en la boca constituye una importante **barrera química** de la inmunidad innata. Actúa sobre las bacterias, especialmente grampositivas, al romper los enlaces glicosídicos entre las moléculas del ácido N-acetilmurámico y la N-acetil glucosalina, y provocar la lisis bacteriana por debilitamiento de la capa de mureína, un peptidoglicano de la pared celular.

Estómago: pH ácido, enzimas digestivas.

Intestino delgado: enzimas digestivas.

Colon: equilibrio de la comunidad bacteriana, defecación.

Nariz, nasofárinx y bronquios: células vibrátiles, estornudo, escalada mucociliar (eliminación de partículas según tamaño), tos, secreciones bronquiales.

Ojos: parpadeo, lágrimas, lisozima.

Vagina: epitelio, pH ácido, lactobacilos, lisozima, inhibina.

Esperma: pH alcalino, espermina.

Micción: eliminación de microorganismos, pH.

Tensión de oxígeno celular:

Temperatura: la fiebre es un mecanismo innato que se manifiesta ante la infección por acción de pirógenos endógenos liberados por los leucocitos, como las prostaglandinas y ciertas citocinas: interleucina 1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) que estimulan el centro termorregulador elevando la temperatura corporal. Se ha demostrado que esta elevación de la temperatura favorece los mecanismos de defensa tanto inespecíficos como específicos, especialmente la acción de los interferones (actividad antiviral) y la acción de los linfocitos T (inmunidad específica).

Factores humorales

A continuación se mencionan las distintas sustancias que se encuentran en la circulación o en las secreciones y que se activan para actuar como herramientas defensivas de la inmunidad innata. Algunas de ellas ya fueron mencionadas anteriormente:

*Beta-lisinas.**Fibrinolisin.**Lisozima.*

Lectinas de unión a manosa (del inglés MBL): actúa como opsonina y activa el complemento por la vía de las lectinas.

Proteína C reactiva: se une a polisacáridos y fosforilcolina de las superficies de microorganismos como opsonina y activa el complemento por la vía alterna.

Opsoninas: se denominan **opsoninas** a las sustancias que se unen a las paredes bacterianas facilitando la fagocitosis de las bacterias. Ejemplo: tuftsin, complemento, anticuerpos naturales, proteína amiloide P sérica.

Proteína de unión a lipopolisacáridos (LBP): favorece la unión de lipopolisacáridos (LPS) bacterianos a la molécula CD14.

CD14 soluble: se une a LPS y favorece la interacción de éstos con los monocitos y macrófagos que poseen receptores para CD14.

Defensinas $\alpha, \gamma \beta$: provocan la lisis de las membranas bacterianas.

Sistema del complemento: (ver más adelante) tienen como funciones: opsonización, lisis celular, quimiotaxis, acciones proinflamatorias, e interviene en la respuesta humoral.

Sistema de cininas: calicreína I (bradicinina) y calicreína II: son sustancias proinflamatorias. Son responsables del edema y, junto con factores del complemento, se relacionan con la cascada de la coagulación.

Factores celulares

Fagocitos profesionales: polimorfonucleares neutrófilos, eosinófilos; monocitos/macrófagos.

Inflamocitos: basófilos y mastocitos que intervienen en los procesos alérgicos.

Células NK (células citotóxicas naturales o células *natural killer* o linfocitos granulares grandes, LGL, CD16+ y CD 56+), que no poseen marcadores T o B y que actúan como antivirales, antitumorales e inmunorregulatorias. Son activadas por IL-12 e Interferón (INF) entre otras citocinas. Poseen receptores activadores e inhibidores de la actividad NK y la unión de estos receptores con moléculas clase I del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) puede activar o inhibir la actividad citotóxica de la célula según el tipo de receptor. Las moléculas CMH clase I son necesarias para presentar el Ag a los linfocitos T citotóxicos y activarlos (ver más adelante), pero en el caso de las células NK no es necesaria dicha presentación y, por el contrario, la unión de estas moléculas con los receptores KIR (*killer inhibition receptor*) produce inhibición de la respuesta NK.

Poseen receptores para la porción Fc de las inmunoglobulinas (Igs) por donde se unen a los anticuerpos unidos a células blanco la lisis de éstas, mecanismo conocido como ADCC (citotoxicidad anticuerpo dependiente).

Estas células derivan de células madres pluripotenciales conocidas como *stem cells*, presentes en la médula ósea. De este grupo de células deriva la línea linfoblástica que origina los linfocitos T y B y las células NK, y la línea mieloblástica que da origen a los progenitores: eritroide para eritrocitos o glóbulos rojos, megacariocito para las plaquetas, basófilo, eosinófilo, granulocito-neutrófilo para los neutrófilos y los monocitos que a su vez originarán los macrófagos.

En el proceso de inflamación aguda cumplen un papel fundamental los **neutrófilos**. Éstos maduran en médula ósea como mieloblasto, promielocito, mielocito, metamielocito y neutrófilo maduro que pasa al torrente sanguíneo y a través de estímulos quimiotácticos pasan a los tejidos periféricos.

Los **eosinófilos** actúan en los mecanismos de defensa contra parásitos multicelulares e intervienen en la inflamación alérgica.

Los fagocitos poseen en su membrana diferentes tipos de receptores (cuadro 14-1), para ligandos específicos que a través de vías de señales intracelulares activan distintos mecanismos celulares y síntesis proteica de diferentes proteínas necesarias en la inmunidad innata.

Cuadro 14-1. Receptores de neutrófilos y macrófagos para la fagocitosis

- Receptores de manosa (lectina del macrófago)
- Receptores depuradores (*scavenger*) se unen a LDL modificadas, oxidadas o acetiladas y a bacterias
- Integrinas Mac-1 (CD11bCD18)
- Receptores de opsoninas: Fcg RI, C3b, CR1, receptor de C1q
- Receptores tipo Toll (11 tipos de TLR): ligan LPS, peptidoglucano, ac, lipoteicoico, lipoarabinomanano, zimosan, flagenina, HSP 60, ARN bicatenario, etc.

Barreras inflamatorias

Las constituyen el aumento de la **permeabilidad capilar** con extravasación del fluido vascular rico en proteínas de fase aguda, **aflujo de fagocitos profesionales**, **lisozimas** que clivan paredes bacterianas e **interferón** que induce la actividad antiviral en células sanas y **producción de citocinas proinflamatorias**.

MECANISMOS DE LA RESPUESTA INESPECÍFICA

Ante la presencia de bacterias o macromoléculas extrañas, el organismo pone en marcha el

mecanismo inflamatorio inespecífico. Las células dañadas o injuriadas e incluso las propias bacterias estimulan la liberación de mediadores químicos, que provocan cambios vasculares, celulares y proteicos, como el aumento de la expresión en las membranas de moléculas de adhesión y otros receptores, que favorecen la llegada de los fagocitos cuyo papel fundamental es efectuar la fagocitosis, término utilizado por Elie Metchnikoff (premio Nobel 1908 por el estudio del papel de la fagocitosis). A continuación se resumen los pasos de una respuesta inflamatoria inespecífica:

- Se libera *histamina* que provoca la vasodilatación de los capilares y las vénulas, y el aumento de la permeabilidad vascular.
- Se produce el aumento de proteínas de fase aguda como la *proteína C*, que es capaz de unirse al polisacárido C presente en la pared de algunos hongos y bacterias, y activar la vía del complemento.
- Se activan las cininas, como la bradicinina que, además de aumentar la permeabilidad vascular, estimula los receptores del dolor.
- Se produce un enlentecimiento del flujo vascular regional.
- Se estimula la expresión de *moléculas de adhesión* tanto en la membrana de los fagocitos como en la de las células endoteliales, lo que permite la llegada de las células, la marginación a nivel

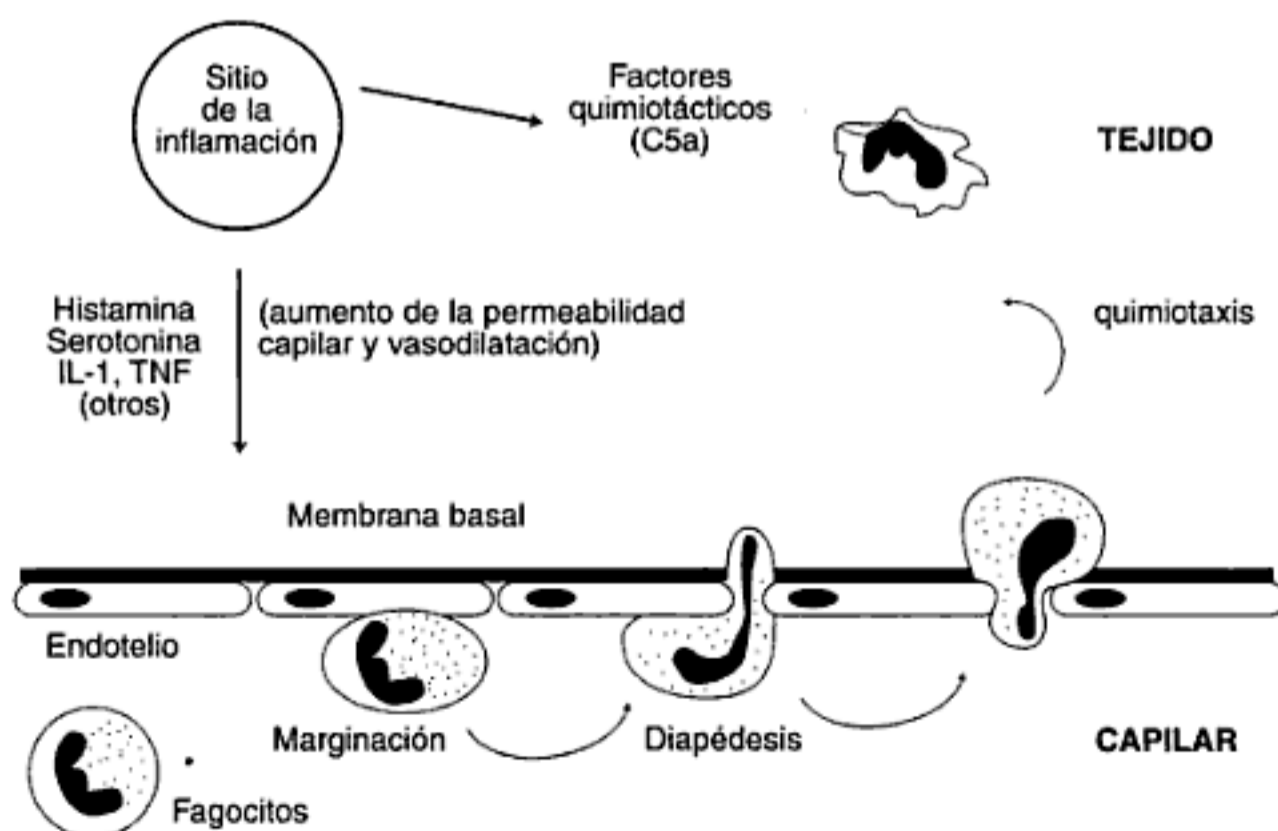


Fig. 14-1. Migración de los fagocitos. Se expresan las moléculas de adhesión tanto en las células endoteliales como en los fagocitos, lo que facilita la marginación, el rodamiento sobre la superficie endotelial y la trans migración de los fagocitos hacia el sitio de la inflamación, atraídos por los factores quimiotácticos.

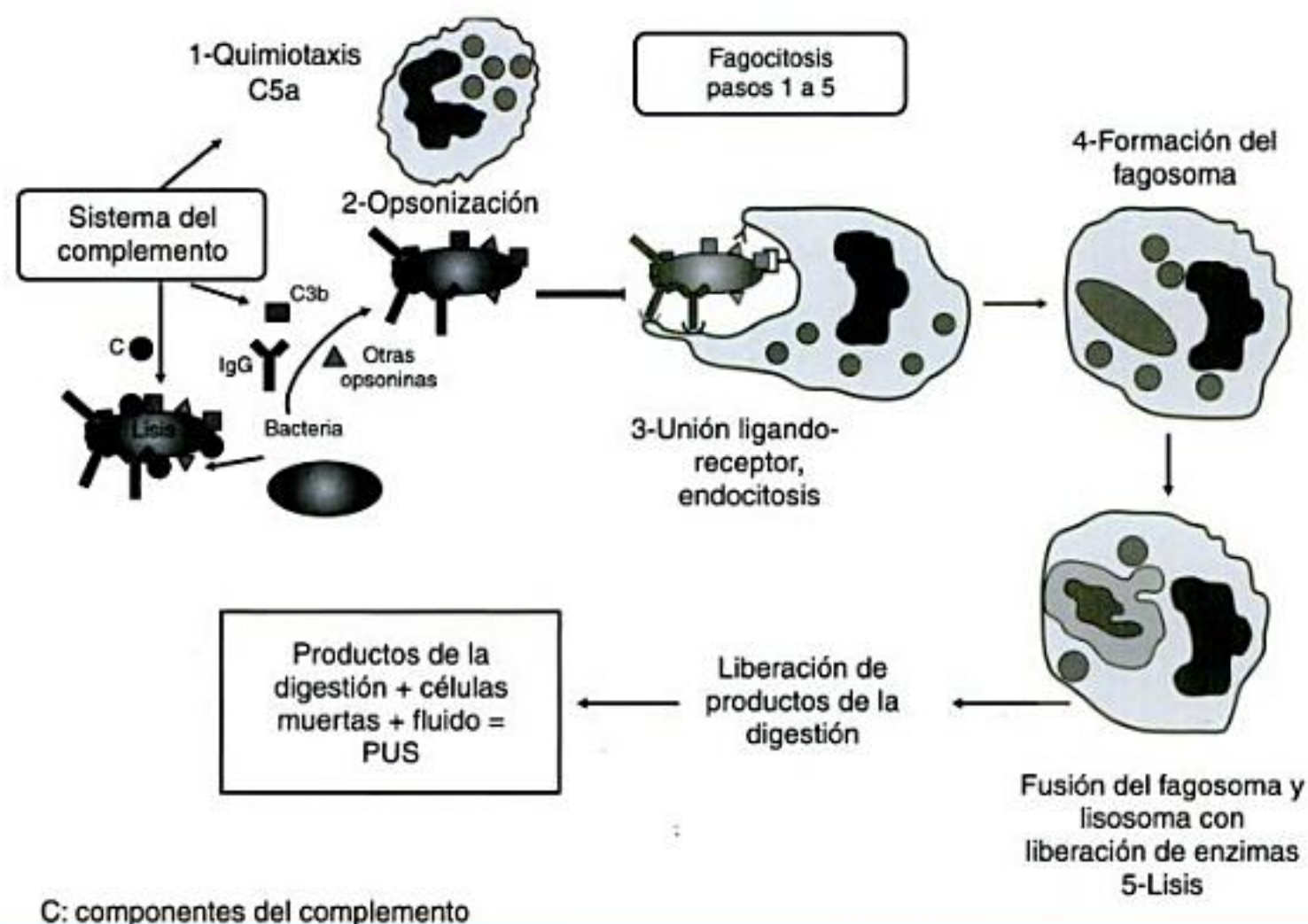


Fig. 14-2. Respuesta innata o inespecífica: La bacteria es lisada por el sistema de complemento o es fagocitada: 1) quimiotaxis, 2) opsonización, 3) endocitosis (uso de receptores) o pinocitosis (sin receptores) 4) formación del fagosoma y unión con el lisosoma, 5) lisis y digestión. Los productos de este proceso dan lugar a la formación de pus.

vascular (los neutrófilos pueden unirse al endotelio por poseer PSGL-1 que es el ligando para la selectina P que se expresa en las células endoteliales), el llamado *rolling* o rodamiento sobre la superficie endotelial y la trans migración o diapédesis hacia el sitio de infección (fig. 14-1).

Las **moléculas de adhesión** del proceso inespecífico forman parte del grupo de las *selectinas* y las *integrinas*. Existen otras moléculas de adhesión, como las de la *superfamilia de las inmunoglobulinas* (actúan más en el fenómeno específico), las *cadherinas*, que mantienen la integridad de los tejidos e intervendrían en la patogenia de las metástasis (los leucocitos carecen de cadherinas) y las *sialomucinas* o *adresinas*.

Las **integrinas** son numerosas y resultan de la combinatoria de dos cadenas polipeptídicas alfa y beta unidas en forma no covalente que atraviesan la membrana celular. Básicamente podemos dividir las en diferentes subfamilias según las cadenas beta: $\beta 1$ (CD11), $\beta 2$ (CD18), $\beta 3$, etc., que les darían la característica funcional. Por ejemplo: las integrinas que poseen $\beta 1$ intervienen en la unión de las células a la matriz extracelular, las de $\beta 2$ en la unión de los leucocitos al endotelio o a otras células del sistema inmune y las de $\beta 3$, conocidas

como *citoadhesinas* en las interacciones de los neutrófilos y las plaquetas en zonas de inflamación o de lesiones vasculares. La presencia de Ca^{2+} y Mg^{2+} aumenta la afinidad de las integrinas. Las integrinas consideradas más importantes en la adhesión celular son $\alpha 1 \beta 2$ que pueden marcarse con Ac monoclonal anti CD11a/CD18, también conocida como LFA-1 (*leucocyte function associated antigen 1*) y la $\alpha M \beta 2$ (CD11b/CD18, Mac-1 o CR3) (cuadros 14-2 y 14-3).

Las **selectinas** son moléculas transmembrana que se unen a restos de hidratos de carbono (como las lectinas) y permiten la adherencia de los leucocitos y del endotelio (cuadros 14-4 y 14-5).

Las moléculas de adhesión, junto con las quimioattractantes, intervienen fundamentalmente en el mecanismo de extravasación leucocitaria, permitiendo la llegada de las células a los tejidos periféricos, donde se produce el foco inflamatorio como defensa contra la injuria o ingreso de agentes infecciosos.

- Se produce la *opsonización* de las bacterias al ser rodeadas por anticuerpos preexistente (*anticuerpos naturales*) o por la fracción C3b del complemento, que van a actuar como opsonina (fig. 14-2).

Cuadro 14-2. Moléculas de adhesión: integrinas

Integrina	Ligando
$\alpha 1\beta 1$ (VLA-1)	Colágeno, laminina
$\alpha 2\beta 1$ (VLA-2)	Colágeno, laminina
$\alpha 3\beta 1$ (VLA-3)	Colágeno, laminina, fibronectina
$\alpha 4\beta 1$ (VLA-4)	Fibronectina, VCAM-1
$\alpha 5\beta 1$ (VLA-5)	Fibronectina
$\alpha 6\beta 1$ (VLA-6)	Laminina
$\alpha 7\beta 1$	Laminina
$\alpha 8\beta 1$	
$\alpha 9\beta 1$	
$\alpha v\beta 1$	
$\alpha L\beta 1$	ICAM-1, ICAM-2
$\alpha M\beta 1$	ICAM-1, C3bi, fibrinógeno
$\alpha X\beta 1$	C3bi, fibrinógeno
$\alpha v\beta 1$	Vitronectina, fibrinógeno, factor de von Willebrand, fibronectina, trombospondina
$\alpha IIb\beta 3$	Ídem anterior
$\alpha 6\beta 4$	Laminina
$\alpha v\beta 5$	Vitronectina
$\alpha v\beta 6$	Fibronectina
$\alpha 4\beta 7$	Fibronectina, VCAM-1
$\alpha M290\beta 7$	
$\alpha v\beta 8$	
otras	

- Los fagocitos son reclutados por quimiotaxis a través de citocinas llamadas *quemoquinas* o *quimiocinas*. Las quemoquinas más comunes para los neutrófilos son C3a, C5a (fracciones del Complemento) y la interleuquina 8 (IL-8), llamada actualmente CXCL8, mientras que para los eosinófilos son C3a, la eotaxina y la IL-5.
- Se produce el fenómeno de *fagocitosis* propiamente dicho, por el cual la célula emite prolon-

Cuadro 14-3. Integrinas en la inflamación

Molécula	Ligando o receptor	Localización
$\alpha L\beta 2$ (CD11a/CD18, LFA-1)	ICAM-1, ICAM-2	Leucocitos
$\alpha M\beta 2$ (CD11b/CD18, Mac-1, CR3)	ICAM-1, C3bi, fibrinógeno	Neutrófilos monocitos, algunos linfocitos
$\alpha X\beta 2$ (CD11c/CD18, gp150/95)	C3bi, fibrinógeno	Polimorfonucleares, linfocitos
$\alpha IIb\beta 3$	Fibrinógeno, fibronectina, vitronectina, trombospondina Factor de von Willebrand	Plaquetas Eosinófilos, monocitos, linfocitos
$\alpha 4\beta 1$ (VLA-4)	VCAM-1	

Cuadro 14-4. Selectinas en la inflamación

Molécula	Ligando o receptor	Localización
Selectina E (ELAM-1, LECAM-1)	Sialil Lewis x Sialil Lewis a, selectina L	Células endoteliales inducidas
Selectina P (GMP-140, PADGEM)	Sialil Lewis x (CD15 en neutrófilos, monocitos, plaquetas), selectina L	Células endoteliales inducidas, plaquetas
Selectina L	Selectinas E y P, Ag MECA 79, carbohidratos	Neutrófilos, eosinófilos, linfocitos

gaciones de su membrana plasmática, como pseudopodios, y es capaz de incorporar el material externo por dos mecanismos: *endocitosis* o *pinocitosis*, para su digestión o lisis (fig. 14-2).

QUIMIOCINAS Y RECEPTORES DE QUIMIOCINAS

Las quimiocinas son proteínas solubles de 8 a 16 kD producidas por una variedad de células en la fase inicial de la injuria. También son esenciales en la maduración y migración de las células hacia los órganos linfoides. Su conocimiento junto a sus receptores, al igual que las moléculas de adhesión y sus receptores, han cobrado gran interés por las posibilidades de ser blancos terapéuticos. Se conocen más de cincuenta moléculas distintas clasificadas en cuatro familias según su estructura y función: CC (cisteína-cisteína) como MCP-1, CCL3, CCL4, CCL5 (RANTES), CXC (Cis-otro aminoácido-Cis) como la interleucina 8 (IL-8) o CXCL8 que recluta neutrófilos, CX₃C cuyo única molécula conocida es la fractalkina (CX₃CL1) y C.

Una subfamilia de CXC-ELR+ (tienen el motivo ELR: glutámico-leucina-arginina cerca del amino terminal), como la CXCL8, son quimioattractantes y activadores de neutrófilos y contribuyen a la reparación de las heridas. Algunos tienen funciones en la vascularización y en la angiogénesis. Su interacción con microorganismos ha sido reconocida con los LPS que estimulan la liberación de estas quimiocinas y sus receptores, así como también de citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF α . Los receptores de las quimiocinas despiertan gran interés, como el CCR7 que juega un papel importante en la interacción entre la inmunidad innata y la adaptativa. Especialmente cuando la célula dendrítica fagocita al agente patógeno, se activa y aumenta la expresión de CCR7, cuyos ligandos CCL19 y CCL21 las dirigen hacia

Cuadro 14-5. Moléculas de adhesión inducidas sobre células endoteliales

Molécula	Cinética	Inductores principales
Selectina P	Rápida	Trombina, histamina, derivados del complemento
Selectina E	Lenta	IL-1, TNF, LPS
ICAM-1, VCAM-1	Lenta	IL-1, TNF, LPS, IFN γ

Cuadro 14-6. Principales marcadores de superficie de monocitos/macrófagos humanos

Molécula marcadora	Función
CD11a/CD18 (LFA-1)	Adherencia y activación
Receptores del complemento CR3: CD11b/CD18, Mac-1, CR3)	Adherencia y activación
CD11c/CD18, gp150/95	Adherencia y activación
aD/CD18	Adherencia y activación
CD13, CD15, CD17, CD31, CD36, CDw65CD68	Marcadores de membrana (CD13 aminopeptidasa, CD17 lactosilceramida, CD31 migración transendotelial de leucocitos, CD36 receptor basurero de LDL oxidadas, presente también en endotelio, plaquetas y eritrocitos)
VLA-4 (CD29/CD49bd)	Receptor de fibronectina y VCAM-1
CD14	Receptor de la proteína (LBP) fijadora de LPS
MFR	Receptor de manosil fucosa
Fc γ RI/CD64	Receptor de alta afinidad para IgG (fagocitosis, opsonización, ADCC)
Fc γ RII/CD32	Receptor de afinidad intermedia para IgG
Fc γ RIII/CD16	Receptor de afinidad baja para IgG, presente en monocitos y células NK
CR1 (receptor de C3b, CD35)	Opsonización y fagocitosis
CD25 (IL-2-cadena alfa)	Cadena alfa del receptor de IL-2

la vía aferente de los nódulos linfáticos y permiten allí la presentación antigénica para dar lugar a la respuesta adaptativa. Otros receptores de interés son los correceptores de CD4 en el ingreso del virus HIV tipo 1, el CXCR4 para los linfotrópicos y el CCR5 para los macrófagotrópicos. El conocimiento estructural de receptores permite ensayos de inmunorregulación farmacológica.

FAGOCITOSIS Y LISIS

La fagocitosis es, junto con el complemento, el mecanismo más importante contra los microorganismos extracelulares. Los fagocitos tienen en su membrana diferentes proteínas y receptores. Por ejemplo, receptores capaces de unirse con la porción Fc de los anticuerpos, con C3b y con formil péptidos, típicos de las bacterias (el hombre no sintetiza formil proteínas). De esta manera, al unirse los receptores con sus ligandos correspondientes, permite que el fagocito envuelva a la bacteria y la endocite (o fagocite) (fig. 14-2). Se conocen múltiples receptores de los monocitos/macrófagos, incluso los que responden a hormonas; en el cuadro 14-6 se resumen aquellos que pueden ser utilizados como marcadores de superficie identificados por distintas técnicas, como la inmunofluorescencia que permite la visualización de las células y su conteo en microscopio de epifluorescencia o por citometría de flujo.

El **endosoma** formado tiene un pH ácido que favorece la disociación de los ligando-receptores y así se pueden reciclar los receptores que vuelven a ser expresados en la membrana del fagocito. El contenido del endosoma se contacta con las enzimas lisosomales y forma el lisosoma secundario, donde se producirá la lisis y digestión del microorganismo o de las macromoléculas. Cuando las vesículas formadas por la expansión de la membrana celular son grandes, se las conoce como **fagosomas**. También puede fagocitar macromoléculas por **pinocitosis**, donde no intervienen los receptores.

Este proceso requiere energía, por lo que el fagocito está metabólicamente muy activo y sintetiza enzimas, prostaglandinas y leucotrienos que favorecen el fenómeno inflamatorio, para lo cual requiere de una serie de transducción de señales intracelulares que activan factores de transcripción. Se han descrito numerosos receptores de esas señales, entre ellos han cobrado importancia en los últimos años los llamados receptores Toll (TLR *toll like receptors*), homólogos a una proteína de *Drosophila*, identificados en más de once tipos que son necesarios para la respuesta a dife-

Cuadro 14-7. Mecanismos líticos de los neutrófilos

<i>Dependientes del oxígeno</i>	
Sistema de la NADPH oxidasa	
Mieloperoxidasa (gránulos azurófilos)	
Especies reactivas del O ₂ : -OH, O ⁻ , O [*]	
<i>No dependientes del oxígeno</i>	
Lisozima, defensinas, hidrolasas, elastasa, catepsina G, proteinasa 3, azurocidina, colagenasa, gelatinasa, lactoferrina, otras.	

rentes bacterias y virus. Estos receptores pueden unirse a LPS, peptidoglucano, ácido lipoteicoico, lipoarabinomanano, zimosan, flagelina, proteína de choque térmico 60 (HSP 60), ARN bicatenario, este último demuestra que podrían reconocer la replicación viral y generar la señal de activación de la síntesis de interferón tipo I en la célula infectada. Algunos TLR, como el TLR4, actúan ligados a CD14 un receptor de LPS (fig. 14-3). La actividad biológica de LPS es mediada por la proteína fija-

dora de LPS (LBP), una glicoproteína hepática de fase aguda con alta afinidad para LPS. La LBP forma un complejo con LPS (LPS-LBP) y actúa como una proteína de transferencia que lleva LPS hacia receptores ubicados en la superficie celular. El complejo LPS-LBP ejerce su actividad al entregar LPS a un receptor de membrana específico denominado mCD14 que se encuentra en la superficie de macrófagos, monocitos y neutrófilos. El mCD14 carece de dominio intracelular, por lo que debe unirse a proteínas transmembranas como los TLR, para inducir la señalización intracelular con activación de mediadores y factor nuclear kappa-B (NF-κ B) que permite la síntesis, por ejemplo de IL-1, una potente citocina proinflamatoria.

Los neutrófilos pueden sintetizar y secretar otras citocinas, como IL-8, IL-10, que estimulan la síntesis de anticuerpos, IL-12 o factor activador de células NK y estimulador de la respuesta celular y TNF α una citocina con espectro de acción similar a IL-1.

La lisis de las bacterias puede realizarse por mecanismos enzimáticos y por mecanismos *dependientes del oxígeno* (cuadro 14-7). La NADPH oxi-

Cuadro 14-8. Inhibidores del sistema de complemento

<i>Inhibidor</i>	<i>Tipo de proteína</i>	<i>Vía</i>	<i>Función</i>
C1 inhibidor (C1 inh)	Soluble	Clásica	Serina proteasa, disocia C1q
Proteína de unión a C4b, RCA (C4bBP)	Soluble	Clásica	Inhibe la formación de C3 convertasa por unión a C4 Es cofactor del Factor I para el clivaje de C4b
Factor H, RCA	Soluble	Alternativa	Inhibe la formación de C3 convertasa por unión a C3 Es cofactor del Factor I para el clivaje de C3i; y C3b
CR1, (RCA) y cofactor proteico de membrana (MCB), RCA	Unida a membrana	Clásica y alternativa	Inhibe la formación de C3 convertasa por unión a C4b o C3b. Cofactor del Factor I para el clivaje de C4b o C3b
Factor acelerador de destrucción (DAF), RCA	Unida a membrana	Clásica y alternativa	Acelera la disociación de las C3 convertasas de las vías clásica y alternativa
Factor I	Soluble	Clásica y alternativa	Serina proteasa. Cliva C3b o C4b. Utiliza cofactores, como C4BP, CR1, factor H, DAF o MCP
Proteína S	Soluble	Terminal	Une C5b, C6 y C7, y forma complejos solubles de C5b.6.7 que impiden su unión a la membrana
Factor homólogo de restricción (HRF) e inhibidor de la lisis de membrana (MIRL)	Unida a membrana	Terminal	Une C5b, C6, C7 y C8 para formar C5b. 6.7.8 sobre células autólogas, para impedir la unión de C9
Inactivador de anafilotoxina	Soluble	Efectora	Bloquea la actividad anafilotóxica de C3a y C5a

RCA: regulador de la actividad del complemento. Son proteínas cuyos genes están codificados en el cromosoma 1.

dasa y la mieloperoxidasa son capaces de formar especies reactivas del oxígeno (oxígeno singulete O^{\bullet} , anión superóxido $O_2^{\bullet-}$ y radicales hidroxilo $-OH$) que son tóxicos e inestables, por lo que pueden reaccionar con estructuras y favorecer su ruptura. También se activa la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) que forma el óxido nítrico (NO), un potente vasodilatador, que puede reaccionar con las especies reactivas del oxígeno y formar compuestos más tóxicos. La producción de estos compuestos del oxígeno puede estudiarse por quimioluminiscencia, por el NBT o técnica del nitroblue tetrazolio, que se basa en la reacción de dichos compuestos con la base incolora del NBT para dar productos de color azul que pueden ser valorados en el espectrofotómetro o en el caso de extendidos celulares pueden visualizarse con el microscopio óptico como gránulos azules dentro del fagocito. De esta forma, puede evaluarse el sistema fagocítico. Actualmente puede estudiarse también por citometría de flujo con el test de dihidrorodamina.

Los **macrófagos** tienen una gran capacidad fagocítica, microbioestática y microbicida. Sintetizan y liberan una gran cantidad de citocinas y quimiocinas que intervienen en distintos procesos de la inflamación e interrelaciona la inmunidad innata con la inmunidad adaptativa o específica. A diferencia de los neutrófilos se diferencian en los tejidos a partir de los monocitos originarios del torrente sanguíneo. Por otra parte, pueden tomar características propias según el tejido, como las células de Kupffer en el hígado, los macrófagos alveolares, los esplénicos, los osteoclastos y otros. Los macrófagos pueden presentar péptidos antigénicos a los linfocitos T a través de las moléculas clase I y II del CMH, son células presentadoras de antígenos profesionales, junto con las células dendríticas y los linfocitos B. Algunos monocitos pueden diferenciarse a células especiales llamadas **células dendríticas**, importantes en la presentación antigénica a linfocitos T vírgenes, que no realiza el macrófago.

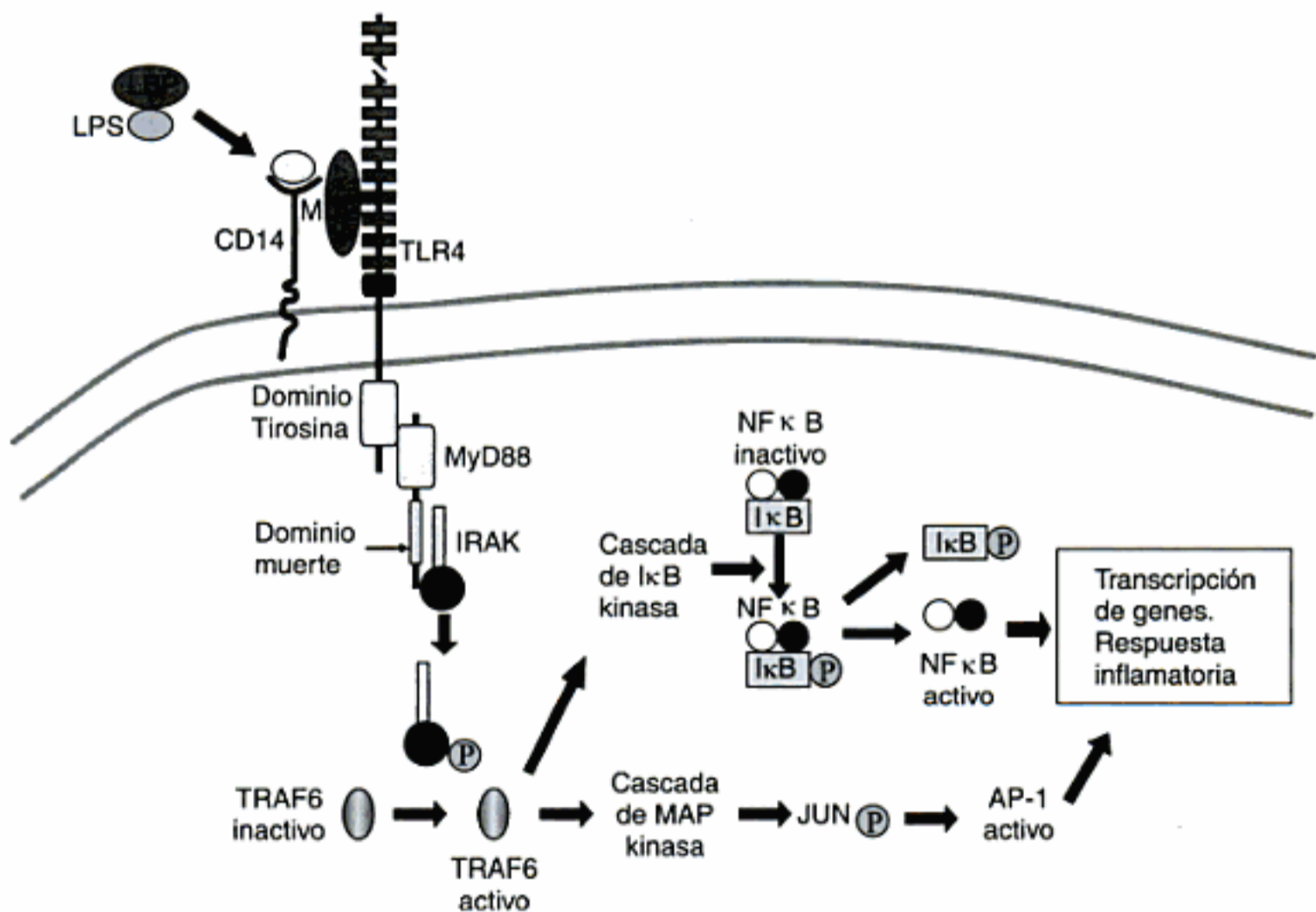


Fig. 14-3. Receptores tipo Toll (TLR4). El TLR4 tiene especificidad para LPS (bacterias gramnegativas) y para HSP60 (*Chlamydia*). Transducción de señales. LPS: lipopolisacárido; LBP: proteína fijadora de LPS; MyD88: producto del gen (88) de la diferenciación mieloide primaria; IRAK: cinasa asociada al receptor de IL-1; TRAF6: factor 6 asociado al receptor de TNF. A través de la señalización intracelular se activan los factores de transcripción NFκB y AP-1 que estimularán la transcripción de genes de citocinas proinflamatorias y otras proteínas de la respuesta inflamatoria.

SISTEMA DEL COMPLEMENTO

El sistema del complemento es un sistema globulínico mixto que se encuentra inactivo en el plasma y que comprende más de treinta proteínas, la mayor parte de ellas sintetizadas en el hígado. Las primeras proteínas pueden ser sintetizadas por los monocitos, macrófagos, células endoteliales y células epiteliales. Su activación desencadena un fenómeno en cascada de proteólisis sucesivas, que tiene como objetivo la bacteriolisis (Jules Border, premio Nobel 1919). Dada su alta capacidad inflamatoria, existe una regulación en los pasos más importante ejercida por elementos solubles y asociados a membranas celulares (cuadro 14-8).

Las **funciones** más importantes del complemento son la *lisis*, la *opsonización*, su *intervención en la respuesta inflamatoria*, la *neutralización viral* y la *eliminación de inmunocomplejos*. También interviene en la *activación de la respuesta humoral adaptativa*, ya que la fracción C3d de membrana interviene en la segunda señal de activación de linfocitos B. Para la lisis es necesario que se forme el complejo de ataque de membrana con la unión de moléculas de C9 que forman poros en la membrana celular.

C3b y C4b pueden actuar como opsoninas al fijarse a las membranas de las bacterias y a los inmunocomplejos y actuar como ligandos de receptores presentes en los fagocitos, favoreciendo la fagocitosis.

C3a y C5a son anafilotoxinas que inducen el proceso inflamatorio. No sólo se producen al activarse el sistema de complemento, sino también por la acción de otras enzimas, como las lisosomales, la plasmina, la calicreína y otras. C3a interviene en el mecanismo inflamatorio alérgico como quimioattractante de eosinófilos, induce una leve agregación de neutrófilos y estimula el estallido respiratorio con formación de especies reactivas del oxígeno. C5a es un potente factor inflamatorio, es quimioattractante de neutrófilos (quimiocinético y quimiotáctico), activa los fagocitos, lo que favorece la producción de prostaglandinas y leucotrienos, el estallido respiratorio y el aumento de expresión de moléculas de adhesión para la interacción con el endotelio.

En el caso de monocitos y macrófagos estimulan la producción de interleucinas, como la IL-1 y la IL-6, que son sinérgicas con el TNF y el LPS para la estimulación de mayor producción de IL-1. Sobre basófilos y mastocitos favorece su degranulación con liberación de histamina y otras sustancias vasoactivas.

Vías de activación

Existen tres **vías de activación** del complemento: la *vía clásica* a partir de la unión antígeno-anticuerpo con la fracción C1q; la *vía alterna* que puede ser estimulada por diferentes factores: lipopolisacáridos de las bacterias gramnegativas, exotoxinas, venenos de cobra, eritrocitos heterólogos, polímeros aniónicos (dextrán sulfato), zimosan, algunos virus o parásitos, complejos de IgA, IgG e IgE y la vía de lectina (fig. 14-4) que se inicia por la unión de MBL a la superficie de microorganismos.

La **vía clásica**, estimulada por inmunocomplejos con **IgM, IgG1, IgG2 o IgG3**, se inicia con la unión de por los menos dos moléculas de anticuerpo fijador del complemento unidos al antígeno de membrana.

Se activa C1 con sus fracciones C1s, C1q y C1r. La fracción C1q activada se ancla sobre la superficie celular y es fijada por C1r. Se les une Cs y adquieren una conformación con actividad enzimática que se representa con un guión sobre las fracciones (C1qr_{2s2}).

Esta enzima actúa sobre C4 desdoblándola en dos fracciones C4a que se desprende (tiene acción inflamatoria) y C4b que se fija.

También actúa sobre C2 y origina como producto: C2b que se desprende y C2a que se une a C4b, para formar la enzima C4b_{2a}, que actúa sobre C3, por ello se la llama **C3 convertasa**.

C3 convertasa actúa sobre C3 desdoblándola en C3a que se desprende con gran actividad inflamatoria y C3b que se fija a la enzima para poder actuar sobre C5 y constituir la **C5 convertasa**. Por otra parte, como son muchas moléculas de C3 que se clivan, parte del C3b formado actúa como opsonina al fijarse a las membranas bacterianas.

C5 convertasa cliva a C5 en C5a, que también tiene acciones inflamatorias y C5b que se une a la membrana.

A partir de C5, comienza el tramo común de las vías del complemento. A C5b se le unen C6, C7 y C8 para formar un complejo de ataque a la membrana, que permite la unión de moléculas de C9 que se disponen en forma tubular para dar lugar a canales o poros, y producen la lisis de la célula.

La **vía alterna** se activa espontáneamente por distintos factores que estimulan o provocan la hidrólisis de la molécula de C3 en C3a y C3b, como los inmunocomplejos con IgG, IgA o IgE, algunas células infectadas con virus como el Epstein Bar (VEB), distintas bacterias grampositivas o gramnegativas, LPS, parásitos, hongos, sulfato de dextrano, eritrocitos heterólogos, hidratos de carbono, venenos de víboras (cobra, otras), etc.

C3b se une a la superficie de bacterias, virus o células. Si permanece activo, se une al factor B, dependiente de Mg^{2+} , que se hidroliza generando dos fracciones: Ba que se libera y Bb que permanece fijado. La unión de C3b con Bb le da carácter enzimático y actividad de C3 convertasa, que es estabilizada por la properdina y actúa sobre moléculas de C3, la cual genera más C3b autocatalíticamente, lo que permite activar gran cantidad de moléculas.

A esta C3 convertasa se le une otra molécula de C3b, adquiriendo actividad de C5 convertasa, que cliva a C5 para generar C5b y C5a.

C5b dará origen al complejo de ataque de membrana como se describió en la vía clásica.

La **vía de las lectinas** se activa a través de los receptores de reconocimiento de patrones solubles MBL (lectina que se une a manosa, hidrato de carbono común en las terminales glucoproteicas o glucolípidos bacterianos) y lectinas sintetizadas durante la inflamación, como las ficolinas H y L. La unión de carbohidratos, MSAP (proteína análoga a C1s) o MBL, provoca la activación de proteasas séricas (MASP1 y MASP2) que activan a C3 continuando como en los casos anteriores. También pueden actuar sobre C4 y continuar como en la vía clásica.

Regulación

Dado que la activación del complemento se caracteriza por una amplificación con retroalimentación positiva, actuaría ininterrumpidamente hasta agotar las moléculas de C3. Por ello, junto con la activación, se producen distintas proteínas que actúan como inhibidores del complemento, que regulan su actividad (cuadro 14-8).

Alteraciones

Existen deficiencias congénitas del complemento, de casi todas las fracciones.

Las deficiencias de C1, C2 y C4 son clínicamente similares, pero fundamentalmente la de C2 y C4 se asocia al lupus eritematoso sistémico (LES). El 90% de los deficientes congénitos de C4 padecen LES. Por otra parte, en el LES, como en ciertas vasculitis, se produce consumo de complemento que se manifiesta con un descenso secundario de C3 y C4.

La deficiencia de factor D y properdina facilita la infección por *Neisseria*.

La deficiencia de C3 genera infecciones recurrentes a gérmenes piógenos.

La deficiencia de C1 inhibidor origina el angioedema hereditario.

La deficiencia de DAF y HRF está asociada a la hemoglobinuria paroxística nocturna.

La deficiencia de PS puede generar lisis de células sanas, ya que no se impide que C5b6.7 se una a membranas de células vecinas.

La deficiencia del receptor CR2 para C3d provoca una inmunodeficiencia de anticuerpos.

En el caso de formación de inmunocomplejos con autoanticuerpos a nivel tisular, la fijación del complemento y su activación provocan daño tisular, como en las enfermedades por inmunocomplejos. Si los inmunocomplejos son circulantes, pueden quedar atrapados en los vasos sanguíneos y provocar daño local o ser generadores de inmunocomplejos que se depositan a nivel renal o en otros lechos microvasculares.

Estudio del complemento

La fracción C3 del complemento es la más abundante. Está formado por dos cadenas alfa y beta; la primera es la que presenta los sitios de activación. Por acción de la C3 convertasa esta cadena alfa se corta en C3a y C3b. Sólo una parte del C3b se utiliza en la vía del complemento, el resto está en forma soluble. La mayor parte de los reactivos comerciales de uso clínico no discrimina qué parte del C3 es dosado, pero existen anticuerpos monoclonales para detectar las distintas subfracciones (C3a, C3b, C3c, C3d).

Desde el punto de vista del interés clínico podemos efectuar un estudio del sistema de complemento en un primer nivel que comprende el dosaje de C3 presente en el suero y el CH50 o estudio de la actividad del complemento (CH50 indica las unidades líticas al 50% de hemólisis provocado por el complemento). Es importante solicitar los dos estudios, ya que C3 es un estudio cuantitativo y no refleja la actividad de la vía.

En caso de estar en presencia de una colagenopatía o en enfermedades en las que hay consumo de complemento se agrega el dosaje de C4 (valores normales de C3: 70 a 180 mg/dL, de C4: 20 a 60 mg/dL, CH50 80 a 100 U).

Para el estudio de inmunodeficiencias del Complemento se pasa al nivel 2, donde puede estudiarse las fracciones del complemento o sus inhibidores, según la patología y los genes relacionados a éstos.

CUADRO INFLAMATORIO AGUDO

Los procesos inflamatorios agudos, la mayoría de origen infeccioso, caracterizados por la presencia de neutrófilos, responden a los mecanismos

descriptos. Ciertos cuadros metabólicos pueden generar un proceso inflamatorio similar, con mayor participación de monocitos/macrófagos.

Cuando predominan los eosinófilos, estamos generalmente ante una respuesta diferente y podemos llamarlo proceso **inflamatorio alérgico**, en el que no se produce pus, ya que los fenómenos predominantes no son celulares, sino vasoactivos por

liberación de sustancias proinflamatorias por parte de los mastocitos y células cebadas.

En el caso que el mecanismo se produzca por la presencia de IgE fijada al mastocito estamos ante un fenómeno de **hipersensibilidad tipo I** (según la clasificación de Gell y Coombs) que se produce en los pacientes atópicos (alérgicos). Ver en respuesta alterada.

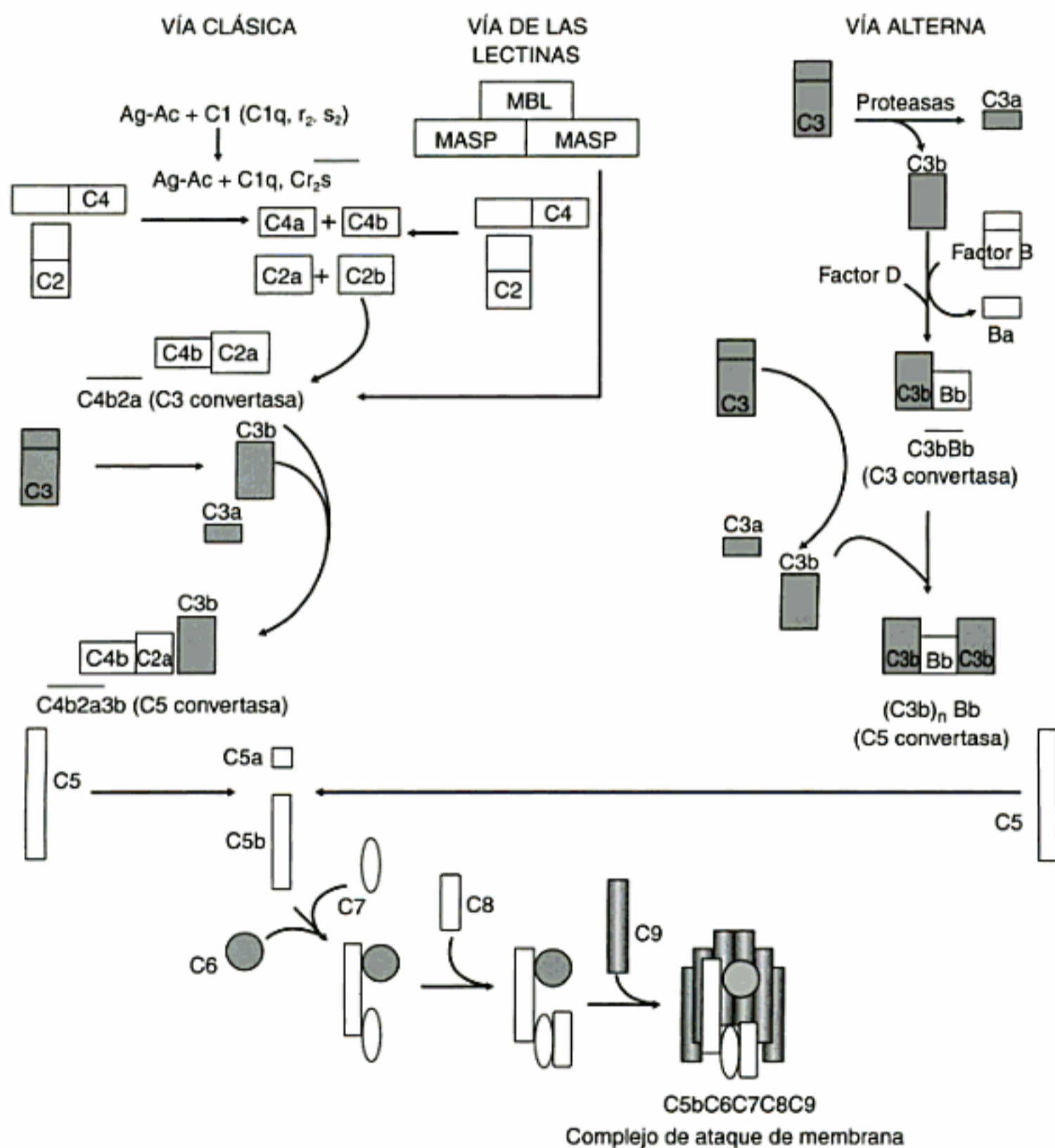


Fig. 14-4. Vías del complemento. *Vía clásica:* se activa con la unión del Ag-Ac y C1q. *Vía de las lectinas:* La unión de MBL (lectina que se une a manosa de los glucolípidos o glucoproteínas bacterianos) a las paredes bacterianas permite la unión de MASP1 y MASP2 (serina proteasa asociada a MBL) que actúan sobre C2 y C4 formando C3 convertasa, e incluso puede actuar directamente sobre C3. *Vía alternativa:* se activa por distintas sustancias que actúan como proteasas o por IgE e IgA, y converge en la fase de acople con C5b para dar lugar al complejo de ataque de membrana.

Resumen

La inmunidad es considerada como el estado de protección o resistencia contra distintas enfermedades infecciosas. Desde este concepto podemos hablar de **inmunidad innata o inespecífica**, que comprende los mecanismos básicos de resistencia que cada uno posee al nacer, e **inmunidad específica o adaptativa**, que involucra los mecanismos de reconocimiento, activación y respuesta del sistema inmune con células (linfocitos T) y proteínas (anticuerpos) específicas frente a una sustancia extraña denominada **antígeno (Ag)**.

La inmunidad innata o inespecífica es el estado de protección o resistencia que cada individuo tiene al nacer, por su capacidad de reconocer patrones moleculares conservados comunes a distintos grupos o familias de microorganismos patógenos y destruirlos, sin que haya existido un contacto previo con ellos. A diferencia de la inmunidad adaptativa o específica no reconoce a un patógeno en particular, ni tiene la especificidad característica de ésta.

Se consideran en este capítulo las barreras naturales: piel y mucosas y los diferentes mecanismos de defensa naturales químicos y físicos que permiten la eliminación de los microorganismos como la tos, la escalada mucociliar, la micción, la defecación, el pH local, la acción de diferentes enzimas, especialmente la lisozima de las mucosas y una de las proteínas de mayor acción bactericida en la boca.

Las principales células de la inmunidad inespecífica son los fagocitos: fundamentalmente los neutrófilos por su capacidad bactericida para bacterias extracelulares, a través de la fagocitosis y la lisis, y la producción de elementos proinflamatorios, como citocinas y quimiocinas y los monocitos que al trasvasar el torrente sanguíneo y llegar al foco de infección se transforman en macrófagos con gran poder fagocítico, bacteriostático y bactericida, y productoras de un amplio espectro de citocinas. Por otra parte, son células presentadoras de péptidos antigénicos profesionales.

Estas células se originan en la línea mieloide en la médula ósea y pasan al torrente sanguíneo. Parte de ellas pueden marginarse en el lecho vascular ante diferentes estímulos y como poseen moléculas de adhesión que pueden actuar de receptores o ligandos, según el caso, se unen a la correspondiente molécula de adhesión presente en las células endoteliales permitiendo el *rolling* y luego la transmigración o trasvasación a través de las células endoteliales hacia los tejidos periféricos en el foco inflamatorio.

La inflamación caracterizada por los signos de Celsius: tumor, calor, rubor y dolor, se produce ante los diferentes estímulos desencadenados en la infección o la injuria, con activación del complemento, el sistema de cininas, liberación de histamina con el consiguiente aumento de la permeabilidad capilar, trasvasación de proteínas proinflamatorias, liberación de factores quimiotácticos, opsoninas y llegada de las células inflamatorias.

Ya en el sitio de acción, los fagocitos reconocen a través de sus receptores a diferentes moléculas de la pared bacteriana, o proteínas virales, u opsoninas fijadas a microorganismos y se produce la endocitosis, fagocitosis o pinocitosis, con la formación del fagolisosoma. La acción de enzimas líticas y la producción de especies reactivas del oxígeno producirán la lisis y la eliminación del material fagocitado.

Otra célula de la inmunidad innata es la célula NK de la progenie linfoblástica que no es ni T, ni B. Puede marcarse con un anticuerpo anti CD16 o anti CD56. Son importantes en la vigilancia inmunológica contra células infectadas por virus y células tumorales. No requieren presentación antigénica por moléculas clase I del Complejo Mayor de Histocompatibilidad y, por el contrario, la unión de ésta a los receptores inhibidores de la actividad NK inhiben su respuesta.

El sistema de complemento es una herramienta fundamental para la defensa contra las bacterias extracelulares. Es un sistema globulínico mixto que se encuentra inactivo en el plasma y que comprende más de treinta proteínas, la mayor parte de ellas sintetizadas en el hígado. Su activación desencadena un fenómeno en cascada de proteólisis sucesivas, que tiene como objetivo la bacteriolisis. Para la lisis es necesario que se forme el complejo de ataque de membrana con la unión de moléculas de C9 que forman poros en la membrana celular. Existen tres vías de activación: la clásica por la unión Ag-Ac, la alterna por activación de proteasas y la de las lectinas

por activación a través de los receptores de reconocimiento de patrones solubles de lectinas, especialmente las ligadas a manosa de paredes bacterianas.

Dado su alta capacidad inflamatoria, existe una regulación en los pasos más importante ejercida por elementos solubles y asociados a membranas celulares. Las funciones más importantes son la *lisis*, la *opsonización*, su *intervención en la respuesta inflamatoria*, *neutralización viral*, y *eliminación de inmunocomplejos*. También interviene en la *activación de la respuesta humoral adaptativa*.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué mecanismos básicos corresponden a la inmunidad innata o natural?
2. ¿Qué características poseen las células NK?
3. ¿Cuál es la fracción del complemento más abundante y común a las tres vías de activación?
4. ¿Cuáles enzimas presentes en los gránulos azurófilos de los neutrófilos producen especies reactivas del oxígeno como mediadores líticos? ¿Cómo se defiende la célula de éstas?

Problema 14-1

Un niño de 5 años de edad con antecedentes de infecciones recurrentes (otitis, sinusitis, dermatitis y celulitis) es internado por neumonía por estafilococo. Presenta linfadenopatías, hepatoesplenomegalia, granulomas subcutáneos y múltiples abscesos en piel por estafilococo. Antecedentes familiares: primo hermano de la madre fallecido por neumonía y sepsis a los 11 años de edad.

Datos de laboratorio de interés: dosaje de Ig.: IgG 1500 mg/dL (VN700-1400 mg/dL), IgM 200 mg/dL (42-194 mg/dL) e IgA 450 mg/dL (95-283 mg/dL). C3 150 mg/dL (70-180 mg/dL), CH50 85 U (80-100 U).

Hemograma normal.

Test de NBT negativo. Fagocitosis y lisis francamente disminuida.

Diagnóstico presuntivo: granulomatosis crónica.

Enfermedad ligada al X (LX) en un 80% y autosómica recesiva (AR) en un 20%. Se produce por defectos de distintas proteínas (citocromo b 245) que intervienen en el complejo de la NADPH oxidasa, lo que impide la formación de especies reactivas del oxígeno, como mecanismo defensivo de los fagocitos. No puede destruir microorganismos catalasa positivo.

Las alteraciones más conocidas son: la delección o mutación del gen para gp91 (cit b), LX; el defecto del gen para p22 (cit b) AR y deficiencias de p47 y p67 citosólicas AR.

Preguntas:

1. ¿Por qué el NBT fue no detectable?
2. ¿Qué otro estudio puede reemplazar al NBT?
3. ¿Es importante el antecedente familiar?
4. ¿Cuáles son las especies reactivas del oxígeno y qué importancia tienen en el mecanismo de defensa?
5. ¿Podría decir qué estudios básicos deben solicitarse a un paciente en el que se sospecha una inmunodeficiencia de la fagocitosis y del complemento?
6. ¿Por qué tenía frecuentes infecciones por estafilococo?

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas AK, Lichtman AH. *Inmunología celular y molecular*. 5ª ed. Madrid: Elsevier; 2004 (5ª ed. en inglés *Cellular and molecular immunology*).
- Asselin-Paturel C, Trinchieri G. Production of type I interferons: plasmacytoid dendritic cells and beyond. *J Exp Med*. 2005; 202(4) : 461-5.
- Beutler B, Jiang Z, Georgel P, et al. Genetic analysis of host resistance: toll-like receptor signaling and immunity at large. *Annu Rev Immunol*. 2006; 24 : 353-89.
- Borregaard N, Sorensen OE, Theilgaard-Monch K. Neutrophil granules: a library of innate immunity proteins. *Trends Immunol*. 2007, 28(8) : 340-5.
- Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med* 354 (6) : 610-621.
- Dorak MT. Role of natural killer cells and killer immunoglobulin-like receptor polymorphisms: association of HLA and KIRs. *Methods Mol Med*. 2007; 134: 123-44.
- Eiguchi de Palmero K, Chasseing NA, Schillaci R. *Inmunología. Guía de laboratorio*. 8ª ed. Ediciones Alondra, 2007.
- Fainboim L, Geffner J. *Introducción a la inmunología humana*. 5ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2005.
- Goldsby RA, Kindt JT, Osborne BA. *Kuby immunology*. 2000. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company.
- Hajela K, Kojima M, Ambrus G, et al. The biological functions of MBL-associated serine proteases (MASPs). *Immunobiology* 2002; 205(4-5) : 467-75.
- Lee JW, Juliano R. Mitogenic signal transduction by integrin- and growth factor receptor-mediated pathways. *Mol Cells*. 2004; 17(2) : 188-202.
- Match L, Lun A, O'Gorman MR, et al. Chronic granulomatous disease (CGD) and complete myeloperoxidase deficiency both yield strongly reduced dihydrorhodamine 123 test signals but can be easily discerned in routine testing for CGD. *Clin Chem*. 2007; 53(5) : 890-896.
- Moreau P, Dausset J, Carosella ED, Rouas-Freiss N. Viewpoint on the functionality of the human leukocyte antigen-G null allele at the fetal-maternal interface. *Biol Reprod*; 67(5) : 1375-8.
- Orange JS, Ballas ZK. Natural killer cells in human health and disease. *Clin Immunol* 2006; 118(1) : 1-10.
- Schumann J, De Libero G. Serum lipoproteins: Trojan horses of the immune response? *Trends Immunol*. 2006; 27(2) : 57-9.

Listado de abreviaturas utilizadas en la Parte II de Inmunología

- aAc: autoanticuerpo(s)
 Acs: anticuerpo(s)
 Ag: antígeno(s)
 ANA: anticuerpos antinucleares
 AP-1: *activator protein 1*
 AR: artritis reumatoidea
 BAFF: factor activador de linfocitos B
 BALT: tejido linfoide asociado a bronquios
 BCR: receptor de linfocitos B
 Btk: Bruton tirosincinasa; enzima tirosincinasa de linfocitos B o de Bruton
 CDn: CD *cluster denomination* seguido de un número corresponde al número otorgado a las moléculas identificadas cuya estructura, función y expresión celular se conocen y fueron catalogadas
 CH50: unidades líticas al 50% de hemólisis provocada por el complemento; es un estudio de la actividad del complemento
 CLIP: péptido de la cadena invariante asociado a clase II
 CMH: Complejo Mayor de Histocompatibilidad
 CPA: célula presentadora de antígeno
 DAF: factor acelerador de destrucción (inhibidor del complemento)
 DAG: diacilglicerol
 CD: células dendríticas
 DN: timocitos doble negativos
 DP: timocitos doble positivos
 ELISA: enzimoimmunoensayo
 FAN: factor antinúcleo o anticuerpos antinucleares
 Fas: CD95. receptor con dominio muerte intracelular, que al unirse al Fas ligando trasmite la señal de apoptosis
 FasL: CD95L o Apo-1. Proteína ligando de Fas
 FLP: folículos linfoides primarios
 GALT: tejido linfoide asociado a intestino
 HLA: antígeno leucocitario humano
 HRF: factor homólogo de restricción
 HSP 60: proteína de choque térmico 60
 IDCS: inmunodeficiencia combinada severa
 IFD: inmunofluorescencia directa
 IFI: inmunofluorescencia indirecta
 Ig: Inmunoglobulina
 IgAs: secretora
 Ig: inmunoglobulina o inmunoglobulina(s)
 IL: interleucina (seguida de un número según de cual se trate)
 IL-7R receptores para interleucina 7
 INF: interferón
 INF: interferón alfa, beta o gamma identificados con la letra griega a continuación
 IP3: inosin trifosfato
 ITAM: motivos de activación, *Immunoreceptor Tyrosine-based Activation motifs*
 KIR: *killer inhibition receptor*, receptor de inhibición de la actividad del *natural killer*
 LAMP: proteína de membrana asociada al lisosoma
 LAT: *linker for activation of T cells*, proteína adaptadora de la señalización de activación T

- LBP: proteína de unión a lipopolisacáridos
 LDL: Lipoproteína de baja densidad
 LES: lupus eritematoso sistémico
 LFA-1: *leucocyte function associated antigen 1*
 LGL: linfocitos granulares grandes
 LIE: linfocitos intraepiteliales
 LPS: lipopolisacáridos
 LT: leucotrienos según los tipos sigue una letra (LTB, LTC, LTD, LTE)
 MALT: tejidos linfoides asociado a mucosas
 MASP1 y MASP2: *mannose-binding lectin-associated serine proteases*; proteasas séricas asociadas a MBL
 MBL: lectinas de unión a manosa (se respeta la sigla del inglés)
 MCB: cofactor proteico de membrana (inhibidor del complemento)
 MIRL: inhibidor de la lisis de membrana (inhibidor del complemento)
 MO: médula ósea
 MSAP: proteína análoga a C1s
 NBT: nitroblue tetrazolio que toma coloración azul frente a las especies reactivas del oxígeno
 NFAT: factor nuclear de células T activadas
 NF- κ B: factor nuclear kappa-B
 NK: *natural killer*, corresponde a la denominación en inglés de las células citotóxicas naturales
 ON: óxido nítrico
 PAF: factor activador de plaquetas
 PAMP: patrones moleculares asociados a patógenos
 PD-1 *programmed dead-1* gen del receptor con motivos de tirosina inhibitorios
 PGI₂: prostaglandina I 2
 PPD: derivado proteico purificado estándar de *Mycobacterium tuberculosis*
 RAG-1 y RAG-2: recombinasas: *recombination Activating proteins*
 RCA: regulador de la actividad del complemento
 RE: retículo endoplásmico
 RIA: radioinmunoensayo
 RRP: receptores de reconocimiento de patrones
 SAg: superantígenos
 SCF: factor de célula madre
 SCID: Inmunodeficiencia combinada severa
 SDF-1: Factor-1 derivado de células stromales
 SFTPA: proteína surfactante pulmonar A
 SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida por el virus de la inmunodeficiencia humana
 SLP-76: *SH2-domain-containing leukocyte protein of 76 kDa*, proteína adaptadora de la señalización de activación T
 Tc: T citotóxicos
 TCR: receptor T
 TdT: enzima desoxinucleotidil transferasa terminal
 TECK: Quemoquina expresada en el timo; *thymus-expressed chemokine*
 TGF β : factor de crecimiento transformante beta
 Th: T colaboradores o T helper
 TLR: *toll like receptors*, receptores símil Toll
 TNF: factor de necrosis tumoral citocina proinflamatoria
 TNF α : factor de necrosis tumoral alfa
 VLPA: vaina linfoide periarterioles

INMUNIDAD ESPECÍFICA, ADAPTATIVA O ADQUIRIDA

1º PARTE

ÓRGANOS LINFOIDES. ANTICUERPOS. INMUNOGLOBULINAS. LINFOCITOS B Y T CÉLULAS PRESENTADORAS DE ANTÍGENO

Kumiko Eiguchi

Contenidos

Órganos del sistema inmunitario. Antígeno. Anticuerpos. Anticuerpos monoclonales. Organización y expresión de los genes de inmunoglobulinas. Maduración de linfocitos B. Receptor T, organización y expresión génica. Maduración de linfocitos T. Complejo mayor de histocompatibilidad. Células presentadoras de antígenos (CPA).

Objetivos

- Introducir al lector en los conceptos básicos de la inmunidad específica o adaptativa.
- Revisar brevemente los conceptos sobre órganos linfoides y sistema linfoide, organización génica y origen de la diversidad del receptor T e inmunoglobulinas, maduración de linfocitos T y B.
- Enunciar los diferentes elementos que intervienen en los mecanismos de defensa humoral y celular.

INTRODUCCIÓN

A diferencia de la inmunidad innata, la inmunidad adaptativa se adquiere al contactarse un inmunógeno, que por lo general es presentado por una célula presentadora de antígeno (CPA) al linfocito o los linfocitos seleccionados, capaces de reconocerlo específicamente para dar una respuesta inmunológica. Por ello puede decirse que *la inmunidad específica se basa en la selección clonal de los linfocitos T y B, y se caracteriza por la amplia diversidad, especificidad, especialidad, regulación y memoria*, como ya será analizado.

Pueden distinguirse *la inmunidad celular y la inmunidad humoral*. En la primera intervienen los linfocitos T que se diferencian en subpoblaciones de linfocitos T reguladores, linfocitos T efectoras, que a su vez se diferencian en linfocitos T citotóxicos (Tc), reconocidos por el marcador CD8, y linfocitos T colaboradores o helper (Th) que poseen la molécula CD4 y se caracterizan por la producción de citocinas, y, por último, los linfocitos T de memoria. En la respuesta humoral intervienen los linfocitos B efectoras que darán origen a las células plasmáticas o plasmocitos capaces de

secretar las distintas inmunoglobulinas (Ig) (IgM, IgD, IgG, IgE e IgA) con función de anticuerpos (Ac) y los linfocitos B de memoria.

ÓRGANOS DEL SISTEMA INMUNITARIO

El sistema inmune posee diferentes órganos y tejidos distribuidos en todo el cuerpo. Desde el punto de vista funcional, se conocen dos grupos: los **órganos linfoides primarios** representados por el *timo y la médula ósea*, donde se desarrollan y maduran los linfocitos y los **órganos linfoides secundarios**, donde se encuentran los linfocitos maduros capaces de reconocer los antígenos (Ag) que se les presentan y generar la respuesta inmune. Entre éstos están *el bazo, los ganglios linfáticos, los tejidos linfoides asociado a mucosas (MALT), tejido linfoide asociado a bronquios: (BALT) o tejido linfoide asociado a intestino (GALT), así como las amígdalas y tejido del anillo de Waldeyer*.

Médula ósea (MO): es el sitio donde maduran los linfocitos B en el hombre, ya que en las aves

ocurre en la bursa o bolsa de Fabricio (de allí la denominación B). Las células estromales cumplen un papel fundamental al permitir la adhesión celular y la secreción de citocinas, factores esenciales para la maduración linfocitaria. Es en la MO donde se encuentra la célula madre pluripotencial que dará origen a los distintos linajes celulares de la hematopoyesis (fig. 15-1).

Timo: Es un órgano bilobulado y es el sitio donde maduran los linfocitos T. Se origina a partir de la tercera bolsa faríngea y se ubica en el interior del mediastino superior. Durante el tercer mes de gestación es colonizado por células progenitoras linfoides primitivas, derivadas de la MO. El epitelio tímico elabora diversas hormonas peptídicas,

como la timulina, timoestimulina, varios tipos de timosina y factor humoral tímico entre otras. Los linfocitos inmaduros, llamados timocitos, están en gran cantidad en la zona de la corteza y son escasos en la zona medular. La corteza y la médula están cruzadas por una red de *células estromales* constituidas por células epiteliales, macrófagos y células dendríticas. En la corteza pueden encontrarse las *células nodrizas*, que son células epiteliales con prolongaciones que rodean hasta cincuenta linfocitos, formando grandes complejos celulares (fig. 15-2).

La falta de desarrollo tímico provoca una inmunodeficiencia conocida como síndrome de Di-George con ausencia de linfocitos T circulantes y falta de inmunidad mediada por células. Alcanza

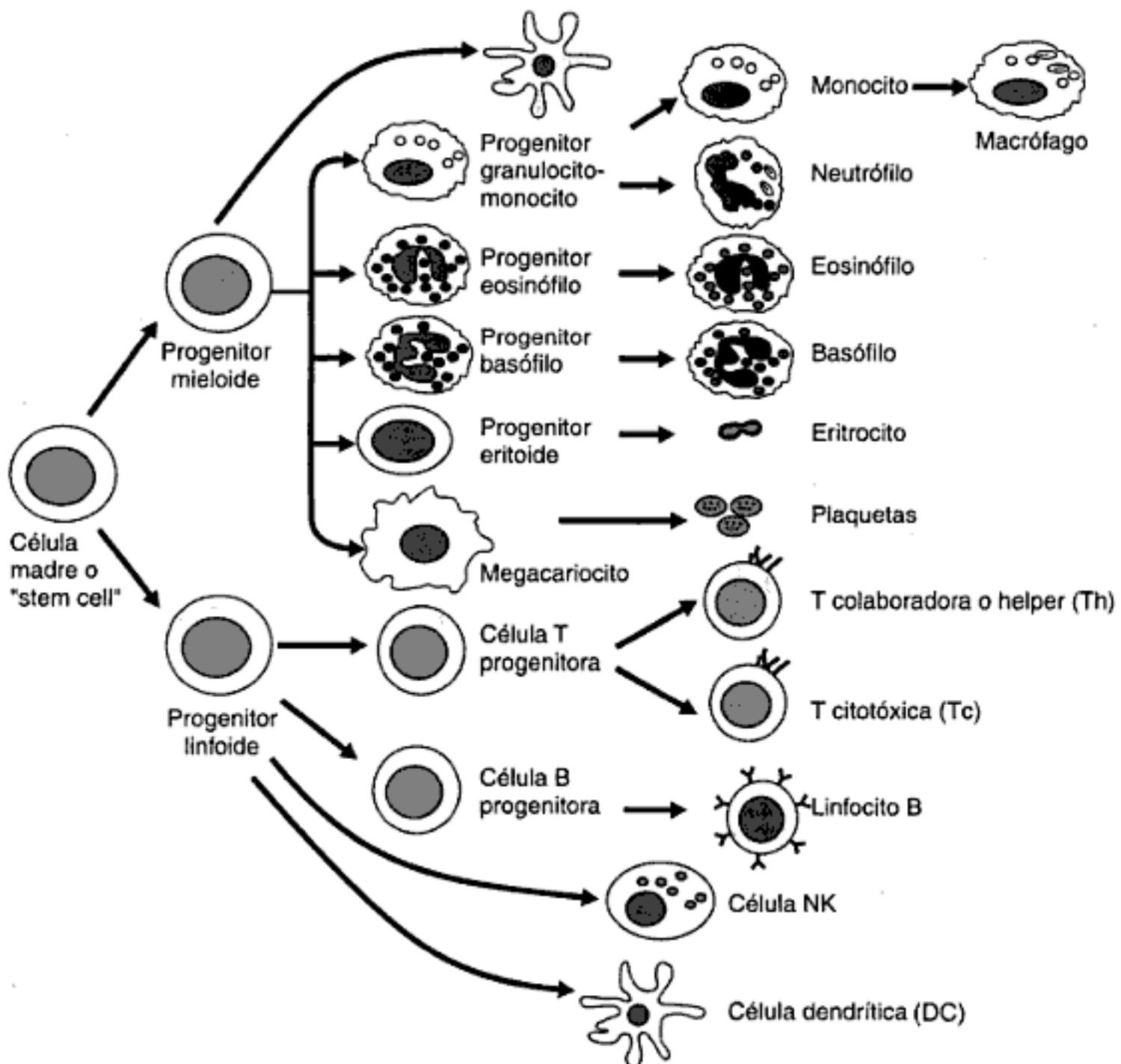


Fig. 15-1. Hematopoyesis. En la médula ósea, las células madres hematopoyéticas se renuevan a sí misma y por distintos factores originan los progenitores mieloides y linfoides. Las células NK y los linfocitos T y B provienen de la línea linfóide. Los linfocitos T maduran en el timo. La mayoría de las células dendríticas provienen de la línea mieloide y el resto de la linfóide.

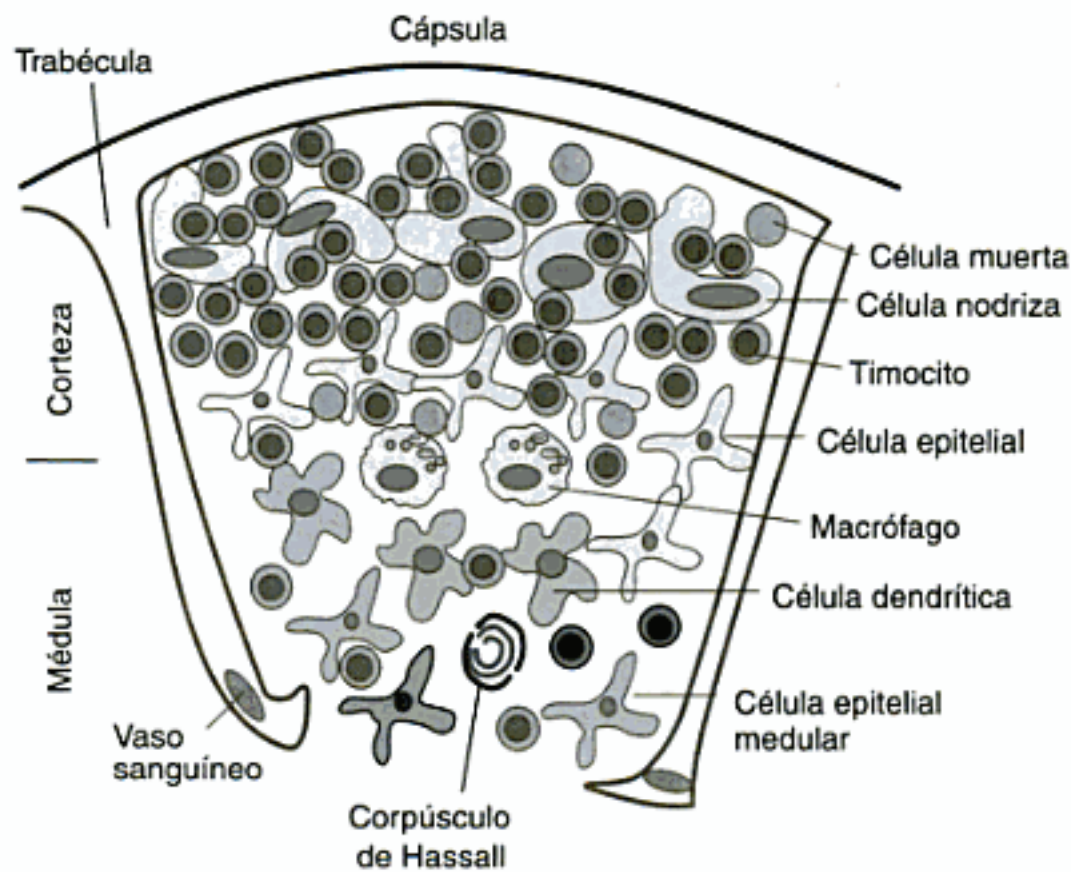


Fig. 15-2. Timo: Diagrama de la arquitectura de un lobulillo tímico.

su desarrollo máximo en la pubertad y luego se atrofia con disminución de células linfoides y aumento de tejido adiposo.

Bazo: Es un órgano linfático secundario que interviene en el desarrollo de respuestas inmunitarias a Ag en el torrente sanguíneo. Se encuentra ubicado por debajo del diafragma en el lado izquierdo del abdomen, pesa alrededor de 150 g en el adulto y está recubierto por una cápsula delgada de tejido conectivo que emite prolongaciones en su interior segmentando al órgano. Se distinguen *la pulpa roja* y *la pulpa blanca* separadas por una zona marginal difusa. La *pulpa roja* posee sinusoides con macrófagos y eritrocitos, muchos de los cuales son defectuosos o envejecidos, y serán destruidos y fagocitados (hemocateresis). La *pulpa blanca* forma una vaina linfoide periarteriolar (VLPA) poblada fundamentalmente de linfocitos T. Ésta está unida a los folículos linfoides primarios (FLP) ricos en linfocitos B. Algunos de estos FLP poseen centros germinales. La zona marginal está poblada de macrófagos, células dendríticas y linfocitos (fig. 15-3).

El bazo tiene como función filtrar la sangre y atrapar Ag de origen sanguíneo, que le llegan, junto con los linfocitos, por la arteria esplénica que desemboca en la zona marginal. Allí los Ag son atrapados por las células dendríticas que los llevan hacia la VLPA, donde serán presentados a los

linfocitos Th que se activan y pueden estimular a linfocitos B. Ambos tipos de linfocitos se desplazan a los FLP que se convierten en secundarios ante un desafío antigénico, presentando centros germinales donde las células B de división rápida o centroblastos y los plasmocitos se encuentran rodeados por grupos densos de linfocitos concéntricos. Cerca de la mitad del volumen sanguíneo total pasa a través del bazo durante el día, por lo que actúa como una línea de defensa contra patógenos hematógenos.

Ganglios linfáticos y circulación linfática: el agua y los solutos de bajo peso molecular del plasma se filtran a través de los vasos sanguíneos al espacio intersticial, y originan el líquido intersticial rico en nutrientes que baña a las células. La mayor parte de este líquido vuelve al torrente sanguíneo a través de las vénulas capilares, pero una parte fluye a través de los tejidos como **linfa** y se recolecta en los vasos linfáticos primarios, caracterizados por una delgada capa de células endoteliales linfáticas que se colapsan fácilmente. La linfa fluye, a baja presión y lentamente a lo largo de los linfáticos primarios, a los vasos linfáticos y al conducto torácico que desemboca en la vena subclavia izquierda. En su camino puede captar Ag extraños que penetren en los tejidos, y los transporta hacia los ganglios linfáticos u otros tejidos linfoides organizados. Por lo tanto, el sistema linfático actúa como línea de defensa de los patógenos tisulares.

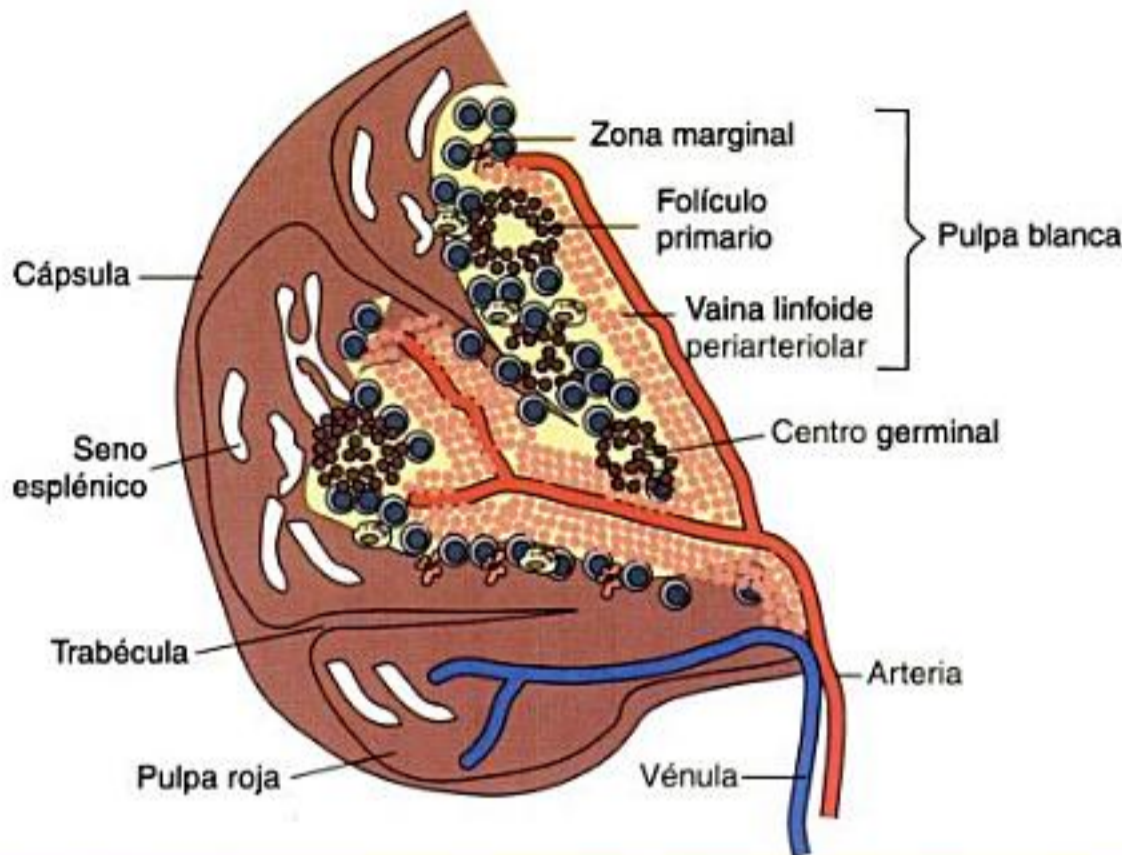


Fig. 15-3. Diagrama de la estructura de un corte transversal del bazo. El folículo secundario posee centros germinales. La zona marginal contiene linfocitos, macrófagos y células dendríticas.

Los **ganglios linfáticos** están distribuidos a lo largo de la vasculatura linfática y tienen un tamaño de 1 a 25 mm de diámetro, que puede aumentar hacia el extremo venoso. Son los sitios en que se activan las respuestas inmunitarias frente a Ag en la linfa. A medida que la linfa se filtra en los ganglios linfáticos, cualquier Ag queda atrapado por células dendríticas y macrófagos.

Los ganglios más grandes están rodeados por una cápsula fibrosa y tienen una estructura organizada en la que pueden distinguirse tres regiones: *corteza*, *paracorteza* y *médula*, que originan un microambiente distinto. La *corteza*, más externa, posee especialmente linfocitos B, macrófagos y células dendríticas (DC) foliculares dispuestas en folículos linfáticos primarios y al igual que en el bazo, ante el desafío antigénico, pasan a secundarios con un centro germinal y linfocitos activos en distintos estadios. Por debajo de la corteza se encuentra la *paracorteza* poblada de linfocitos T y DC interdigitantes ricas en moléculas HLA (*Human Leucocyte Antigen*) de clase II, que pudieron migrar desde los tejidos. Por último, la *médula* de menor densidad que la corteza está poblada por plasmocitos productores de anticuerpos (Ac), junto con linfocitos T, B y macrófagos.

La linfa fluye al interior del ganglio a través de los vasos linfáticos aferentes y penetra a un seno subcapsular recubierto fundamentalmente por macrófagos. Luego la linfa fluye secuencialmente desde la corteza a la médula y sale a través de un

vaso linfático eferente por el lado opuesto, en la zona hiliar. Por el hilio también penetra la arteriola que lleva el flujo sanguíneo que retorna a través de venas pequeñas por el hilio (fig. 15-4).

Ante la infección y el drenaje antigénico con la consiguiente respuesta inmune, los linfocitos proliferan y el ganglio aumenta de tamaño para dar lugar a la linfadenopatía o adenomegalia, que es transitoria, ya que disminuye al finalizar la infección. En caso de cronicidad o brotes repetidos los ganglios pueden crecer y endurecerse por procesos cicatrizales intraganglionares.

Tejido linfoide asociado a mucosas: las mucosas respiratoria, digestiva y urogenital tienen un área de superficie de aproximadamente 400 m² y son la puerta de entrada de la mayor parte de patógenos, por lo que requieren grupos de tejidos linfoides organizados y difusos que se los conoce como tejido asociado a mucosas o **MALT**, donde se destacan el **GALT** y el **BALT** (del inglés: tejido linfoide asociado al intestino y tejido linfoide asociado a los bronquios, respectivamente).

Las **amígdalas** son agregados nodulares de macrófagos y tejido linfoide ubicados por debajo del epitelio escamoso estratificado de la nasofaringe, del paladar blando a los lados de la parte posterior de la boca y de la base de la lengua. Carecen de cápsula y de vasos linfáticos aferentes; pero poseen folículos linfoides poblados de linfocitos B con centros germinales rodeados de regiones que

poseen linfocitos T. Son estructuras nodulares formadas por células reticulares y fibras entremezcladas con linfocitos, macrófagos, granulocitos y mastocitos. Su función esencial es la defensa contra los patógenos que ingresan a través de las vías epiteliales nasal y bucal.

La mucosa que recubre el tubo digestivo, al igual que el de las vías respiratorias y urogenitales, es capaz de captar el Ag de la luz por endocitosis y llevar a la luz Ac. La capa epitelial mucosa externa contiene los llamados **linfocitos intraepiteliales (LIE)**, muchos de los cuales son linfocitos T que expresan receptor T (TCR) de tipo gamma-delta (véase más adelante), mientras que la lámina propia ubicada por debajo de la epitelial contiene gran cantidad de linfocitos B, plasmocitos, linfocitos T CD4⁺ activados y macrófagos. Se observaron gran cantidad de folículos linfoides en la lámina propia intestinal. Por debajo de la lámina propia intestinal se encuentra la submucosa que contiene *placas de Peyer* que son nódulos de 30 a 40 folículos linfoides primarios que pueden convertirse en secundarios ante el desafío antigénico.

Existen unas **células epiteliales especializadas**, llamadas **células M**, que se encargan del transporte de Ag de la luz de las vías digestivas, respiratorias o urogenitales al tejido linfoide. Estas células se caracterizan por ser aplanadas, sin

microvellosidades y tienen una invaginación o bolsa en la membrana plasmática basolateral llena de linfocitos T, B y macrófagos. Muchas veces las células M pueden ser utilizadas por algunos patógenos como puerta de entrada para la infección (*virus polio*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae*).

Los Ag de la luz son captados por endocitosis y las vesículas endocíticas son transportadas hacia la membrana de la bolsa subyacente donde se funden, y los Ag toman contacto con las células del sistema inmune. Pueden activar linfocitos B que se diferencian a plasmocitos secretores de Ac tipo IgA. La IgA producida atraviesa las células epiteliales de las mucosas (digestiva, glándulas salivales, bronquial, glándulas mamarias en la lactancia, células biliares, vaginales, epitelio uterino, en este caso regulado por estrógenos), donde adquiere la llamada *pieza secretora* o *componente secretor (CS)*, que le da mayor resistencia a las proteasas y sale a la luz como IgA secretora (IgAs), herramienta efectora de la inmunidad específica de mucosas. El CS deriva del receptor poli-Ig que se expresa en la superficie basolateral de la mayoría de los epitelios mucosos. Posee cinco dominios parecidos a la Ig que se unen a los dominios de la región Fc del dímero de IgA. Para la síntesis de IgA se requiere de las citocinas TNF β , IL-4 e IL-5 (fig. 15-5). Es importante el transporte de linfoci-

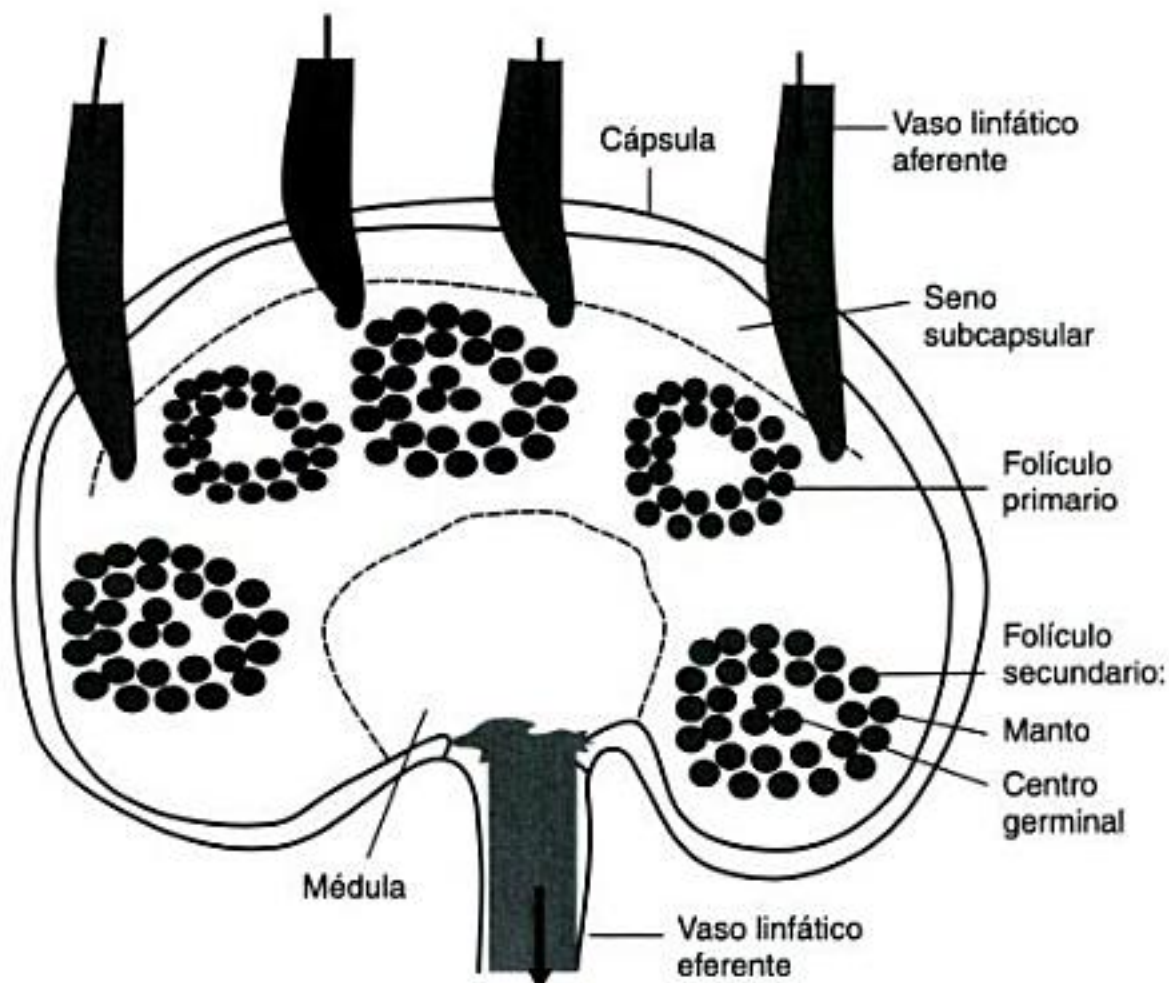


Fig. 15-4. Esquema de la estructura de un ganglio linfático. Los vasos linfáticos grandes poseen válvulas para impedir que la linfa fluya en forma retrógrada.

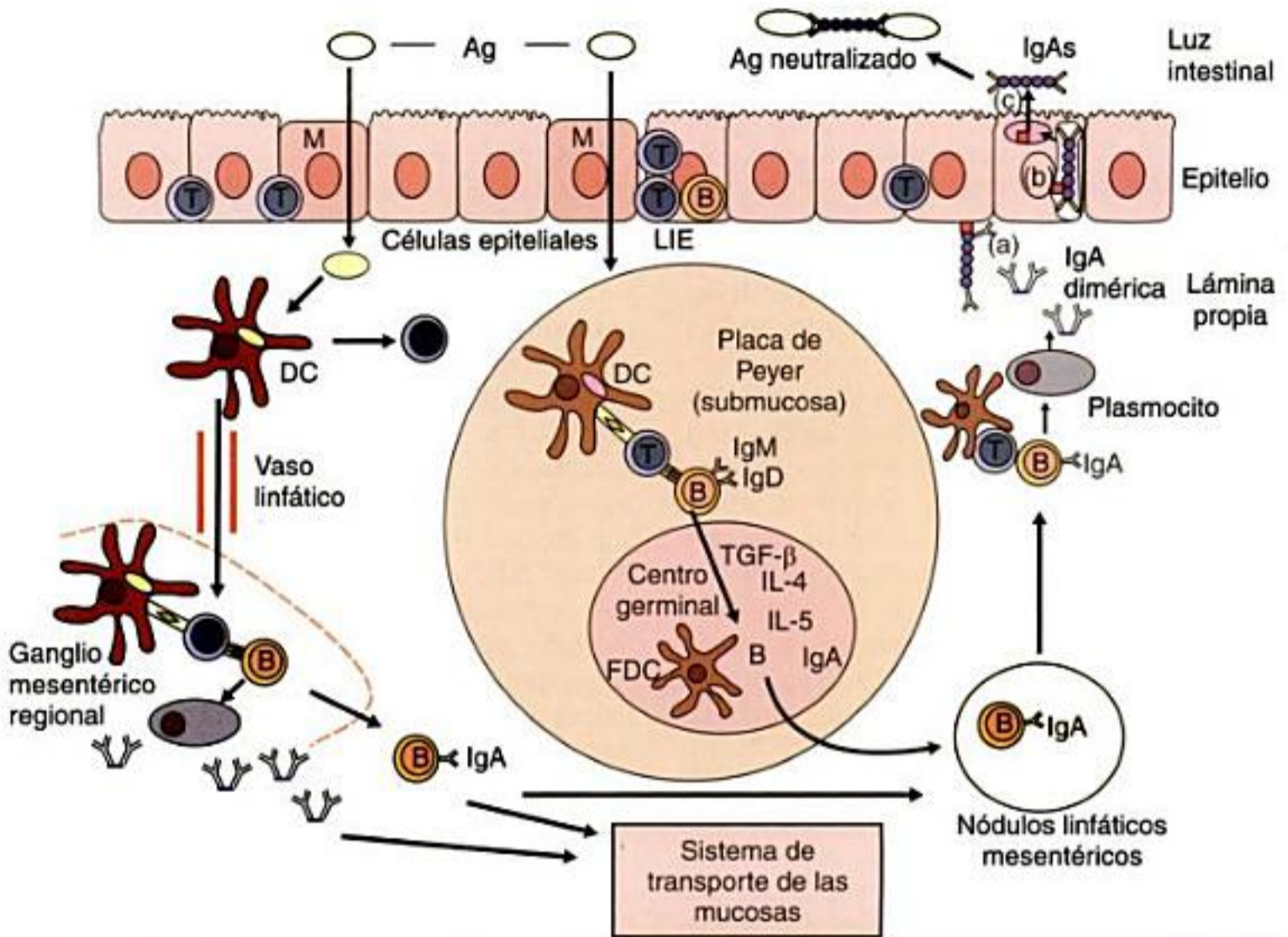


Fig. 15-5. Síntesis de IgA secretora (IgAs). El Ag en la luz intestinal es endocitado por las células M y captado por la célula dendrítica (DC) o llega a la Placa de Peyer (PP). La DC transporta el Ag al ganglio mesentérico regional o puede presentarlo al linfocito activado (linfocitos T de memoria). En la PP el Ag es presentado por la DC y se produce la activación y proliferación de linfocitos con el cambio de clase de Ig a IgA sin CD40L. Para ello se requiere de TGF β , IL-4 e IL-5 y una vez diferenciado el linfocito B IgA, se inhibe en el centro germinal, para una posterior diferenciación al contactarse con las DC foliculares (FDC), hasta migrar a través de los nódulos mesentéricos a la lámina propia. Allí se une con los linfocitos T CD40L⁺, con liberación de citocinas y transformación a plasmocito secretor de IgA. La IgA dimérica se une al receptor poli-IgA de las células epiteliales (a), y ambos son endocitados y transportados a la cara luminal (b); antes de ser secretado, se produce la proteólisis en el extremo del receptor y el resto unido a la IgA constituye el componente secretor. La IgA así unida es secretada como IgAs en la luz intestinal.

tos B diferenciados para IgA y la IgA dimérica a través de las mucosas, lo que permite la presencia de IgA específica en todas las mucosas. La IgM también se sintetiza en mucosas y su actividad es importante en los pacientes deficientes de IgA, mientras que la IgG es escasa.

Tejido linfoide asociado a piel: la piel es también un sitio importante de vigilancia inmunológica. En la epidermis y dermis se encuentran poblaciones de linfocitos que en condiciones normales no forman folículos linfoides. En la epidermis se encuentran las DC conocidas como células de Langerhans que al captar un Ag liberan citocinas que atraen linfocitos de la circulación y son capaces de procesar Ag, migrar a los ganglios linfáticos regionales donde presentan Ag a los linfocitos y se convierten en células interdigitantes, que son

potentes activadores de células Th vírgenes. Los queratinocitos pueden ser inducidos a expresar moléculas HLA de clase II y así adquieren la capacidad de presentar Ag. En la epidermis también se encuentran los linfocitos intraepidérmicos de tipo CD8⁺ con TCR gamma-delta con un limitado repertorio antigénico. La capa dérmica contiene linfocitos CD4⁺ y CD8⁺; la mayoría son células de memoria o fueron activadas, y macrófagos diseminados que cumplirían igual función a las células de Langerhans.

ANTÍGENO

Antígeno (Ag) es toda sustancia capaz de unirse a un Ac específico, e inmunógeno es el Ag capaz de despertar una respuesta inmune.

Cuadro 15-1. Características de las que depende la antigenicidad

Tamaño molecular: mayor de 10 kD (excepciones, insulina, glucagón, otros)
Dosis: intermedia mayor que a dosis extremas
Vía de inoculación: de mayor a menor antigenicidad: subcutánea, intraperitoneal e intravenosa o intragástrica
Presencia de grupos químicos activos (ácidos o básicos) y rigidez molecular (que no sufran distorsiones moleculares como los ácidos grasos)
Posición de los radicales en el núcleo aromático
Estructura espacial: lineal suele no ser antigénica
Hidrofilicidad: los sitios hidrofílicos son probables regiones de alta antigenicidad
Composición química: estructura compleja, mayor antigenicidad que la simple
Forma: particulada, mayor antigenicidad que la soluble; desnaturalizada, mayor que la soluble.
Con múltiples diferencias mayor que con pocas diferencias
Los adyuvantes aumentan la antigenicidad

Existen Ag llamados **haptenos**, que por sí solos no pueden originar una respuesta, pero al unirse a una proteína o *carrier* adquieren el tamaño y la configuración necesaria para darla, originando Ac contra los determinantes antigénicos del *carrier* y contra el hapteno. Esto no sólo es importante de comprender para la elaboración de vacunas, sino como mecanismo fisiopatogénico en el caso de ciertas drogas que actúan como haptenos, dado que en determinadas circunstancias pueden unirse a proteínas de membranas de células propias y originar una respuesta autoinmune.

Los determinantes antigénicos son conocidos como epítopes o sitios de unión con el Ac y **epitipo es el conjunto de epítopes relacionados**.

Los Ag completos son proteínas o hidratos de carbono, pero son **las proteínas las estructuras más antigénicas**. Para que una sustancia resulte antigénica requiere de ciertas características relacionadas a su estructura, peso molecular, concentración, vía de entrada y valencia (cuadro 15-1).

Un microorganismo es un mosaico antigénico, por lo que generará una respuesta policlonal contra varios epítopes propios de la estructura bacteriana como de sus productos de secreción, como el caso de las bacterias extracelulares capaces de producir exotoxinas que deben ser neutralizadas por Ac específicos.

Algunas toxinas actúan como **superantígenos (SAg)** como las toxinas pirogénicas: enterotoxina estafilocócica, toxina del síndrome tóxico, toxina estreptocócica; proteínas virales: CMV, EBV, HIV, HTLV (véase cap. 25); toxina exfoliativa estafilocócica, mitógeno del *Mycoplasma arthritidis*, SAg *Yersinia enterocolitica*, SAg *Yersinia pseudotuberculosis*; etc., llamados así por ser capaces de esti-

mular a un gran número de linfocitos T en mayor medida que los Ag comunes, pero no a todos. Estos SAg se caracterizan por originar respuestas inmunes primarias más potentes, ya que pueden unirse directamente a la región V β de los TCR (ver más adelante), como el caso de las enterotoxinas estafilocócicas que se unen en esa región en la parte exterior de la zona de reconocimiento antigénico, por lo que pueden unirse a muchos linfocitos T que tengan dicha especificidad.

Por otra parte, **no necesitan de la presentación clásica**, pues se unen a las moléculas HLA de clase II en un lugar externo a la hendidura de unión de los péptidos a ser presentados, por lo cual su presentación será independiente de los polimorfismos de los genes del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) de clase II. Esto puede generar respuestas exageradas o de hipersensibilidad de la respuesta innata como ocurre con el shock séptico.

ANTICUERPOS

Los Ac son Ig sintetizadas por los linfocitos B en respuesta a la presentación de un Ag que reaccionará específicamente con él. La zona de reconocimiento y unión se llama **paratope**. No son capaces por sí solos de destruir microorganismos, pero favorecen la fagocitosis, la acción del complemento, la neutralización de toxinas, la citotoxicidad mediada por Ac (ADCC) al unirse a la célula blanco o diana por su paratope y a células efectoras con receptores para Fc (fagocitos, células NK) por la región Fc. También pueden actuar al bloquear la motilidad, adherencia o entrada de microorganismos a las células, entre otras funciones.

Las Ig son glucoproteínas efectoras de la respuesta inmune humoral, que actúan como Ac.

Gerald M. Edelman y Rodney R. Porter (premio Nobel 1972) fueron los primeros en dilucidar la estructura de las Ig. Estructuralmente cada molécula de Ig tiene un **monómero base formado por dos pares de cadenas, un par de cadenas pesadas** de unos 60 kDa y un **par de cadenas livianas** de 24 kDa. Las cadenas pesadas llevan la letra griega correspondiente a la letra árabe de la clase de Ig, así IgG: γ , IgM: μ , IgA: α , IgE: ϵ , IgD: δ . Las cadenas livianas κ o λ son comunes a todas y se disponen hacia el exterior en forma paralela a las pesadas que quedan hacia adentro, formando una especie de Y, unidas por puentes disulfuro. Las regiones N terminal de las cadenas pesadas y livianas muestran una gran variabilidad que se hace mayor en tres dominios de ambas cadenas (regiones que determinan la complemen-

taridad: CDR1, CDR2, CDR3), conocidas como hipervariables, que corresponden a los determinantes antigénicos característicos de cada Ig llamados **idiotipo**, capaces de generar autoAc conocidos como **antiidiotipo**. La presencia de estos Ac obedecería a un mecanismo regulatorio como se explica en la teoría de la red idiotípica de Jerne (premio Nobel 1984). Estos Ac antiidiotipos pueden reaccionar exclusivamente con un tipo de Ac (antiidiotipo privado) o con Ac de estructura similares en la región variable (antiidiotipos públicos o de reacción cruzada). También existen determinantes antigénicos cuyos genes se heredan siguiendo las leyes mendelianas; por lo tanto, son característicos de un grupo familiar y varían dentro de la misma especie: conforman el **alotipo**. El **isotipo** se refiere a las diferentes clases de Ig dentro de un mismo individuo.

Cuando se corta la molécula con papaína, se liberan dos fragmentos: uno formado por fragmentos de la cadena pesada y la cadena liviana llamado **Fab**, donde se encuentra la región de unión al Ag o **paratope** (se une específicamente al epítipo del Ag) que posee una zona de alta variabilidad de aminoácidos, y otro fragmento de cadenas pesa-

das llamado **Fc**, cristizable, responsable de la unión al receptor Fc presente en algunas células, permite el pasaje por la placenta de la IgG y fija el complemento (fig. 15-6).

La IgG posee cuatro subtipos o subclases: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, y la IgA posee dos subtipos: IgA1, IgA2. Las cadenas livianas kappa se codifican en el cromosoma 2p11; las lambda, en 22q11; y las cadenas pesadas, en el cromosoma 14q32. Estos genes son, en realidad, familias de genes que en el RNA germinal se reordenan y originan la gran variedad de clones de linfocitos B con distinta especificidad (Susumu Tonegawa, premio Nobel 1987). Cuando el linfocito B maduro se activa ante el primer contacto con el Ag, prolifera y vuelve a reordenar su material genético, conservando los genes responsables de la zona variable y cambia los genes de la región constante de la cadena pesada. Como consecuencia de ello, se tienen linfocitos productores de IgM, otros que han realizado el cambio de clase para dar lugar a los distintos isotipos de Ig y un grupo pequeño conformará los linfocitos de memoria. Una vez reordenado el material genético, serán productores de un isotipo determinado (IgG, IgA, etc.), pero sin alterar la

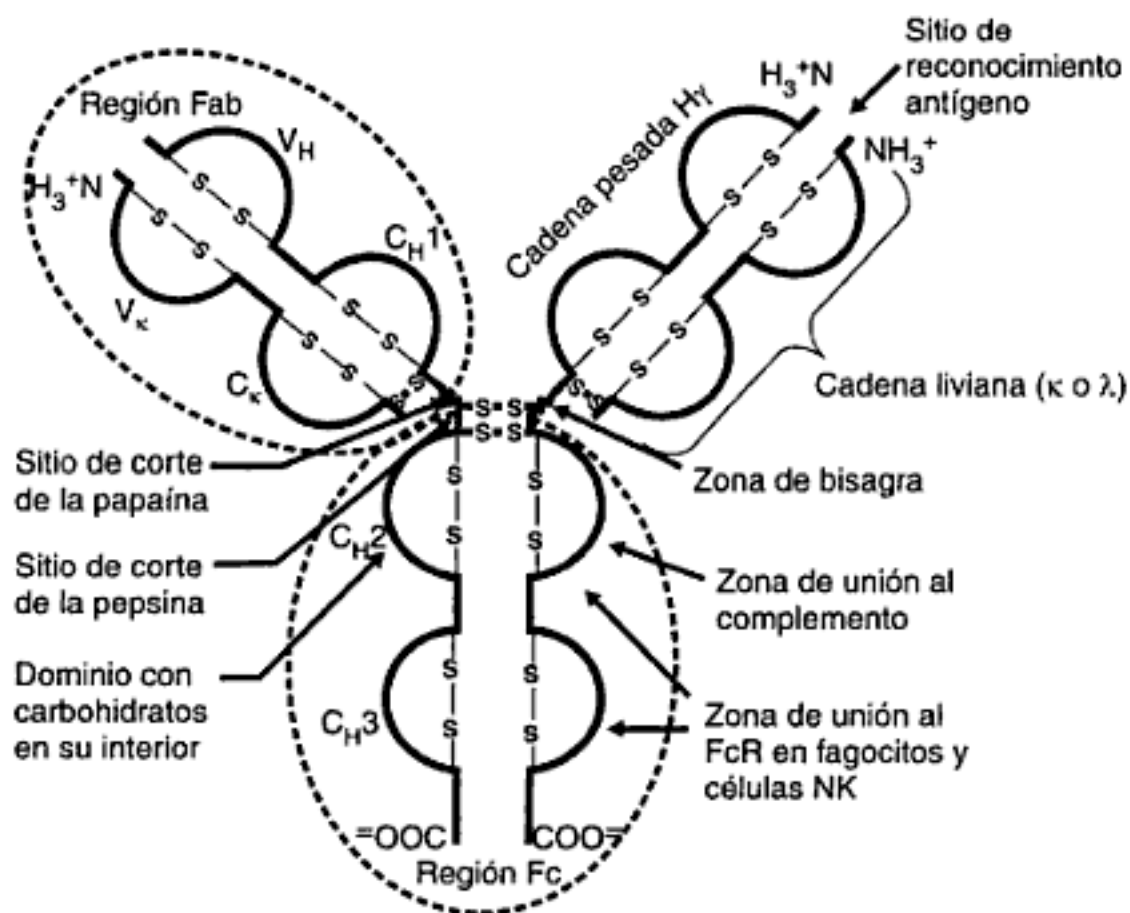


Fig. 15-6. Esquema de la estructura IgG. Formada por dos cadenas H de 446 aminoácidos, con un dominio variable (V) y tres constantes (C), y dos cadenas L de 214 aminoácidos con un dominio V y uno C. Los dominios V de ambas cadenas forman el sitio de unión del Ag y poseen las zonas de hipervariabilidad. Por acción de la papaína se obtienen dos fragmentos Fab (fragmento de unión al Ag, da la especificidad) y un fragmento Fc (fragmento cristizable responsable de la funcionalidad). Por la pepsina se obtiene un fragmento Fab₂, capaz de unir al Ag (dos fragmentos Fab unidos por puente disulfuro que conservan la valencia y especificidad del anticuerpo). El fragmento Fc no resiste la acción de la pepsina (-S-S- puente disulfuro).

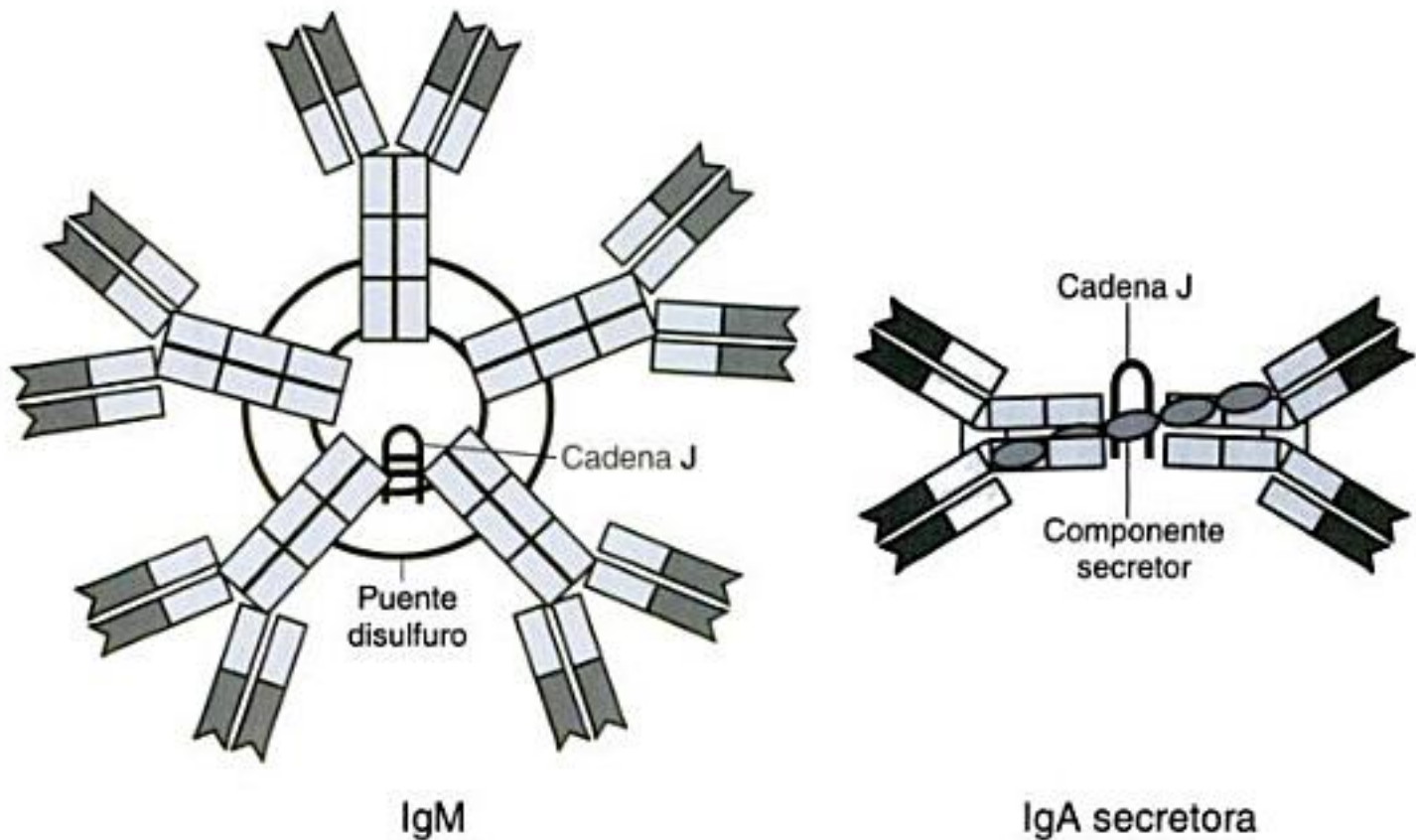


Fig. 15-7. Esquema de la IgM pentamérica y la IgA secretora dimérica con su componente secretor. Ambas formas poliméricas tienen la cadena J, un polipéptido unido a la región Fc de dos monómeros diferentes, por dos puentes disulfuro.

especificidad, ya que los genes de la zona variable se mantienen fijos (fueron reordenados durante la maduración del linfocito). En las sucesivas inmunizaciones o nuevas entradas del Ag, se produce la respuesta secundaria con mutaciones somáticas puntuales, lo que origina una mayor diversidad de Ac y mayor afinidad en la unión Ag-Ac. Este cambio requiere de la colaboración de linfocitos T y la consecuente acción de las citocinas producidas que estimulan el cambio de isotipo.

La más abundante en el suero es la IgG con un valor aproximado de 1g/dL (700 a 1300 mg/dL) en el adulto y comprende el 85% de las Ig, es la de

mayor vida media (23 días) y es la más importante en la respuesta inmune secundaria o de memoria y atraviesa la placenta. La IgM es la primera que se produce como respuesta al Ag, es típica de la respuesta primaria, actúa especialmente sobre polisacáridos, de allí la importancia de su respuesta en bacterias con cubierta polisacárida y es fijadora del complemento. La Ig A (IgA1, IgA2) se encuentra en el suero y en las mucosas tiene una forma dimérica y adquiere una pieza secretora, como se mencionó anteriormente, lo que da lugar a la **IgAs. Ésta es esencial para la defensa de las mucosas; por lo tanto, es muy importante en la cavidad**

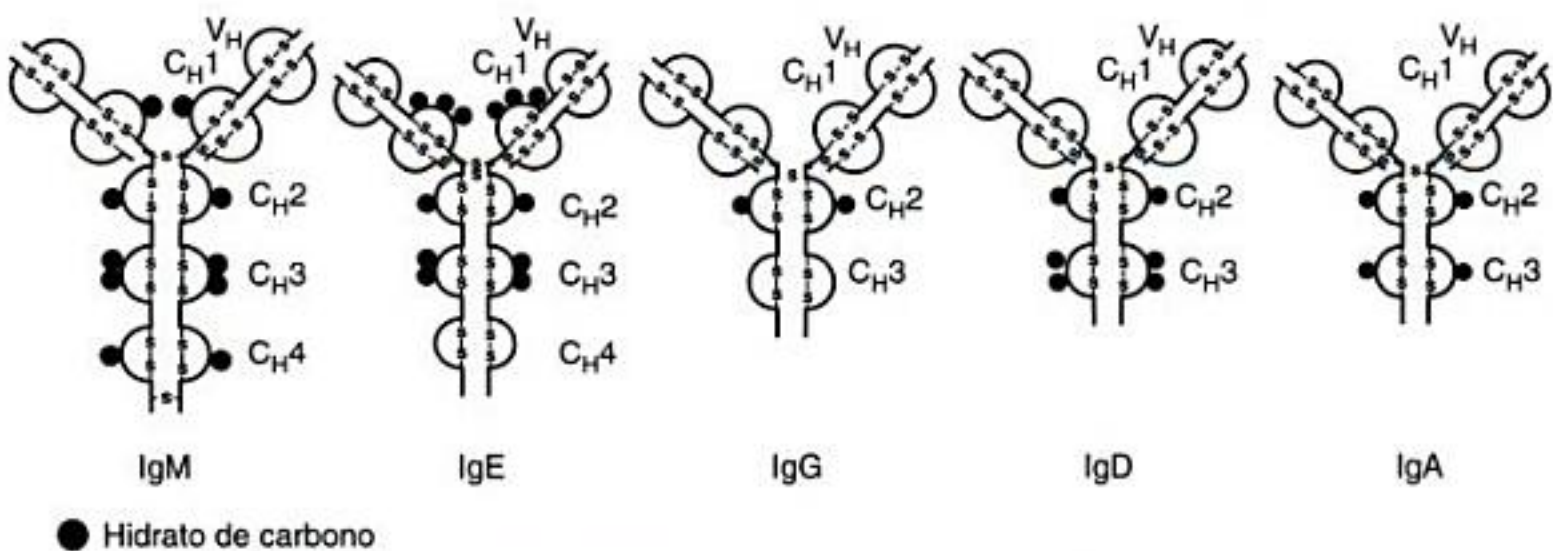


Fig. 15-8. Esquema de los distintos monómeros correspondiente a las cinco clases de inmunoglobulinas secretadas. Se señalan los puentes disulfuro de la región constante y la presencia de hidratos de carbono en los diferentes dominios (se han nominado los dominios de una cadena pesada en cada caso).

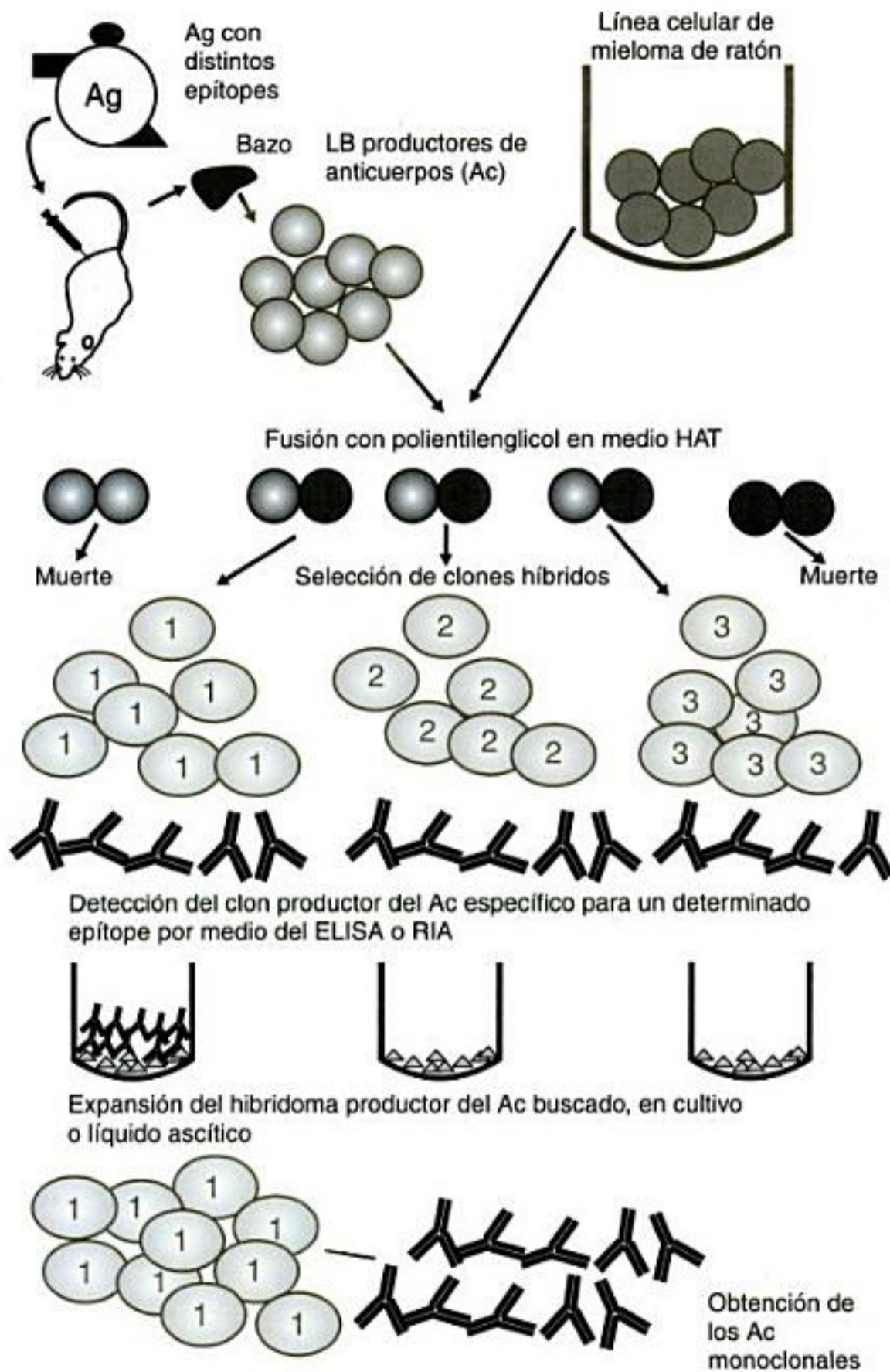


Fig. 15-9. Obtención de anticuerpos monoclonales. Se inmuniza al ratón con el Ag que activará a los clones capaces de reconocer los distintos epítopes de ésta. Se obtienen los linfocitos B (LB) a partir del bazo y se fusionan con células inmortales de un tumor del linaje B como el mieloma. Se obtienen los clones híbridos o hibridomas. El mieloma es carente de la enzima hipoxantil guanina fosforribosil transferasa (HGPRT) que permite la reutilización de hipoxantina o guanina para producir purinas cuando no se produce la síntesis de novo. El medio de cultivo HAT contiene hipoxantina, timidina y aminopterina que bloquea la síntesis de novo de purinas y pirimidinas; por lo tanto, sólo podrán sobrevivir las células que expresen HGPRT. Los LB del bazo no sobreviven en el cultivo y las tumorales tampoco por carecer de HGPRT, que sí la tienen los hibridomas. Éstos poseen la inmortalidad del tumor y la especificidad de los LB. Se seleccionan aquellos clones capaces de producir Ig que reaccionen con el epítope de interés, para continuar con los cultivos celulares. De los sobrenadantes de estos nuevos cultivos se obtienen los Ac monoclonales después de su purificación y control de seguridad y calidad.

Cuadro 15-2. Características de las inmunoglobulinas

Inmunoglobulina: isotipo	IgA		IgD	IgE	IgG				IgM
	IgA1	IgA2			IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	
Subtipo o subclase									
Cadena	$\alpha 1$	$\alpha 2$	δ	ϵ	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3$	$\gamma 4$	μ
Número de dominios de cadena H	4	4	4	5	4	4	4	4	5
Concentración en mg/ml	1-3	0,5	0,03	0,0003	4-12	1-7	0,4-1,3	Hta. 0,5	0,4 a 1,9
					IgG Total: 7-13				
Vida media en días	6	6	3	2,5	23	23	8	23	5
Masa molecular (kD)	150, 300 o 400	150, 300 o 400	180	190	146	146	170	146	950
Estructura	Mono, di o trímero		Monómero	Monómero	Monómero				Pentámero
Coficiente de sedimentación	7-11S	7-11S	9-14S	7S	7S				19S
Activación del complemento (VC)	-	-	-	-	+	±	++	-	+++
Fijación a proteína A estafilocócica	+	+	-	+	++	++	-	++	+
Fijación a proteína G estafilocócica	+	+	-	-	++	++	+	++	-
Se une a receptores Fc de fagocitos	-	-	-	-	++	±	++	+	?
Se une a mastocitos	-	-	-	+++	-	-	-	-	-
Participación en ADCC	+	+	-	+	+	+	+	+	-
Neutralización de patógenos	++	++	-	-	+	±	+++	+	+
Pasaje placentario	-	-	-	-	+++	+	+++	+++	-
Función	Inmunidad de mucosas. Previene la adhesión de microorganismos a la superficie epitelial		Desconocida. Se expresa con IgM (BCR)	Respuesta a parásitos. Se une a mastocitos (Alergia tipo 1)		Contra pneumococo			Respuesta primaria a patógenos. Mayor avidez. Neutraliza toxinas
					Respuesta secundaria a los patógenos con alta afinidad. Neutralización de toxinas. Inmunidad neonatal				

VC: vía clásica. Hta.: hasta.

oral y se mide en la saliva. Limita la infección viral (mixovirus, influenza), inhibe la adhesividad bacteriana a la superficie mucosa, facilita la fagocitosis macrófaga, limita la absorción de sustancias antigénicas (macromoléculas) a nivel de la mucosa y participa en la organización fibrilar del moco.

La IgE se encuentra en muy baja concentración, actúa contra los parásitos multicelulares y es la mediadora de la alergia tipo I (asma, rinitis, eczema, por ejemplo) en los individuos en que genéticamente está aumentada. **La IgD se expresa**

en forma conjunta con la IgM en la membrana de los linfocitos B maduros y se encuentra en muy baja concentración en suero, donde no se conoce su acción, pero recientemente su estudio ha cobrado importancia por el hallazgo de su actividad como autoAc, lo que podría relacionarla con un papel regulatorio a nivel fisiológico y con la autoinmunidad a nivel patológico. **La IgM en el plasma se encuentra en forma pentamérica** (véanse cuadro 15-2 y figs. 15-7 y 15-8).

Cuando se vacuna a un individuo, se utiliza la

parte antigénica, por ejemplo de un microorganismo que no provoque efectos nocivos y sí en cambio produzca la respuesta inmune específica, de tal forma que si se llegara a infectar con ese microorganismo el sistema inmune ya tiene memoria inmunológica y puede reaccionar rápidamente contra él. Por ejemplo, la vacuna antitetánica es un **toxóide** obtenido de la toxina del bacilo tetánico modificada para que no produzca el tétano. Cuando es aplicada con sus respectivos refuerzos, genera una respuesta específica, por la cual se obtienen Ac especialmente tipo IgG. Si por algún motivo se tuviese contacto con la toxina, rápidamente ésta será neutralizada por el Ac. Muchas veces puede ocurrir que uno desconozca si ha sido vacunado (aunque es una vacuna obligatoria) o sospeche que pueda tener un bajo título de Ac. En este caso ante la posibilidad de una infección, dada la rapidez de producción de la toxina y su toxicidad, se indica la aplicación de la Ig específica contra la toxina, conocida popularmente como suero antitetánico o gamma globulina hiperinmune. En este caso se le confiere al individuo **inmunidad pasiva artificial** (véase cap. 30).

La aplicación de la vacuna origina en el sujeto una **inmunidad activa artificial**, que por lo general es transitoria; por ello son necesarias nuevas dosis de vacunas que llamamos refuerzos. Si, en cambio, el individuo se infecta y se defiende, la respuesta la llamamos **inmunidad activa natural** y, en el caso de la IgG materna que atraviesa la pla-

centa, le confiere al recién nacido **inmunidad pasiva natural** (véase cap. 30).

Anticuerpos monoclonales

Se ha comentado previamente que la respuesta inmune es policlonal, pues los Ag activan varios clones productores de Ac específicos pero de distinta afinidad e isotipo, capaces de asegurar un repertorio más amplio de Ig contra el Ag. Serían Ac específicos pero con leves diferencias estructurales y, por lo tanto, distintas características químicas (aunque sean variables mínimas).

Si se aislara un clon productor y se lo hiciera crecer indefinidamente, tendríamos la producción de Ac con iguales características, secretados por células de un mismo clon, capaces de reconocer en forma altamente específica y con gran sensibilidad un epítotope dado y de reaccionar con ese epítotope y no otro. Estos Ac, llamados Ac monoclonales (producidos por un mismo clon) (fig. 15-9), fueron obtenidos por primera vez en 1975 por César Milstein, argentino y George F. Köhler (premio Nobel 1984). El descubrimiento de estos Ac y la forma de obtenerlos por fusión de una célula tumoral de mieloma y un linfocito sensibilizado revolucionaron la ciencia en distintos campos, pues permite utilizar Ac monoclonales para diagnóstico y tratamiento de distintas enfermedades y otros ensayos inmunológicos.

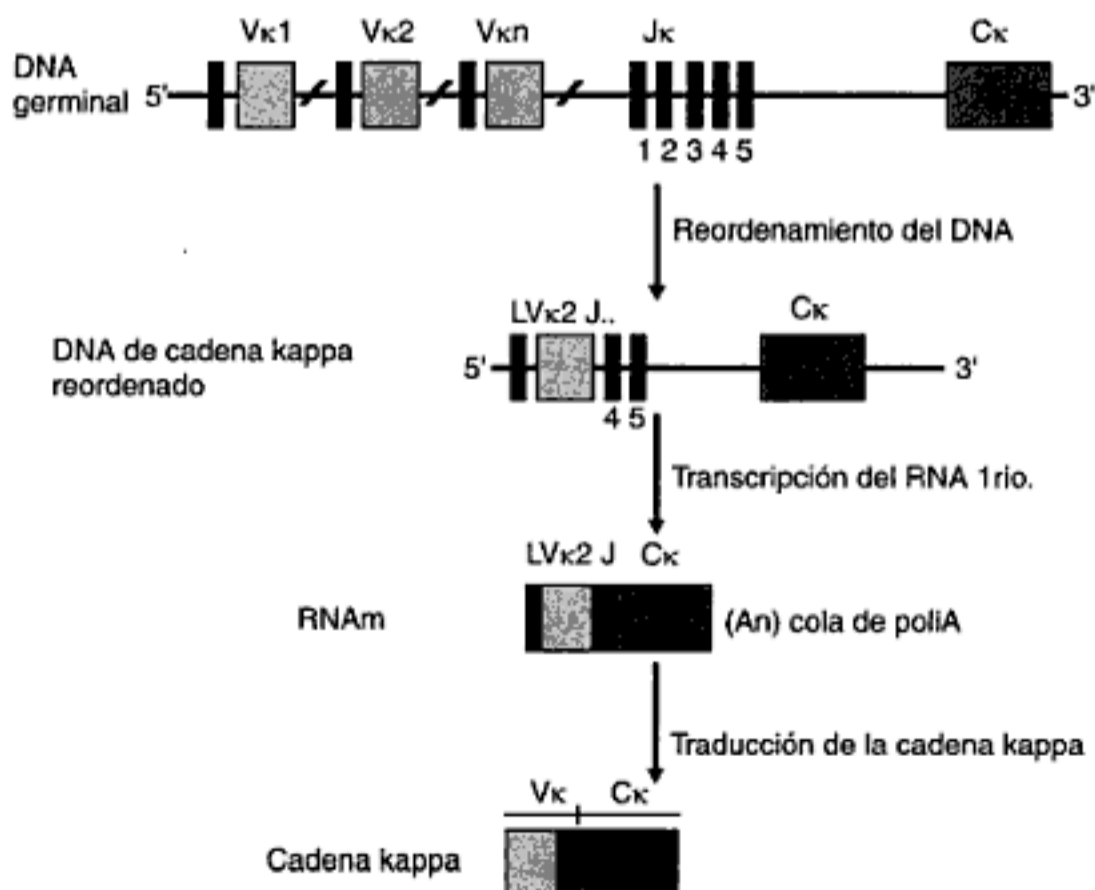


Fig. 15-10. Generación de diversidad. Reordenamiento de los segmentos génicos variables (V) y de unión J de una cadena kappa. Se selecciona al azar un segmento génico variable y un segmento génico J.

ORGANIZACIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS GENES DE INMUNOGLOBULINAS

Como se dijo anteriormente, las Ig poseen una región variable y una región constante. El estudio de la secuencia de aminoácidos que componen dichas regiones mostró que cada molécula de Ac posee una secuencia única en su región variable y en su región constante posee una de un número limitado de secuencias invariables. El RNA de la línea germinal presenta múltiples segmentos génicos que codifican porciones de una cadena pesada (llamados V, D, J y C) o liviana (V, J y C) de una Ig aislada, pero que no son funcionales (no se expresan). Durante la maduración de los linfocitos B en la médula ósea algunos de estos segmentos génicos se ordenan al azar y dan la posibilidad de generar más de un millón de combinaciones (fig. 15-10). En el humano para la familia multigénica lambda existen treinta y un segmentos génicos V λ, 4 J λ y 7 C λ y muchos pseudogenes; para la familia multigénica kappa existen cuarenta segmentos génicos V κ, 5 J κ y 1 C κ y para la familia multigénica de la cadena pesada cincuenta y un segmentos génicos V_H, 27 D_H, 6 J_H y varios segmentos C_H, dispuestos secuencialmente en el siguiente orden C_μ, C_δ, C_γ, C_ε y C_α.

Si se calcula la combinatoria utilizando el número de segmentos génicos conocidos de la

familia de cadenas livianas L y de las cadenas pesadas H, se tiene:

40 segmentos génicos V κ x 5 segmentos génicos J κ = 200 cadenas livianas kappa

31 segmentos génicos V λ x 4 segmentos génicos J λ = 124 cadenas livianas lambda

51 segmentos génicos V_H x 27 segmentos génicos D_H x 6 segmentos génicos J_H = 8262 cadenas pesadas

Si analizamos la probabilidad de combinatoria con cadena kappa tendremos:

200 cadenas L x 8262 cadenas H = 1.652.400 Ac diferentes por combinatoria VJ, VDJ.

Si a ello se le agrega la flexibilidad de unión, la adición de nucleótidos, la hipermutación somática (variaciones en la región variable en la respuesta específica), la diversidad potencial aumenta en un orden mayor de 10¹⁰, de ahí entonces el gran repertorio de especificidades.

MADURACIÓN DE LOS LINFOCITOS B

Los linfocitos B maduros se generan en la vida embrionaria (saco vitelino, hígado fetal y MO fetal) y persisten durante toda la vida adulta en la MO. En el comienzo de la maduración los linfocitos reordenan los segmentos génicos de la cadena H. Primero se asocian los segmentos D_HJ_H (estadio pro-B temprano) y luego se le une V_H al D_HJ_H

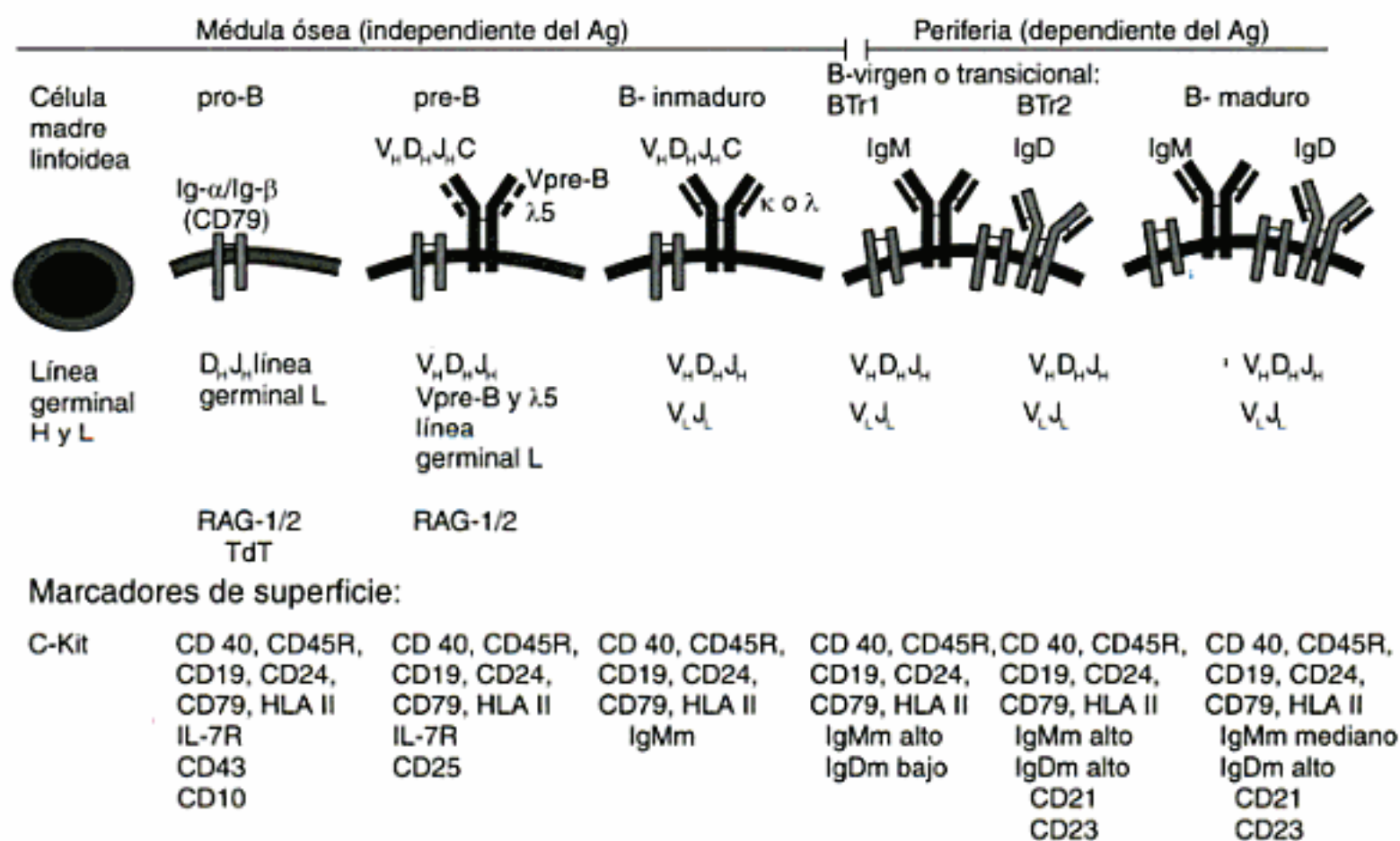


Fig. 15-11. Maduración de los linfocitos B. Características de las etapas de maduración y antígenos de diferenciación.

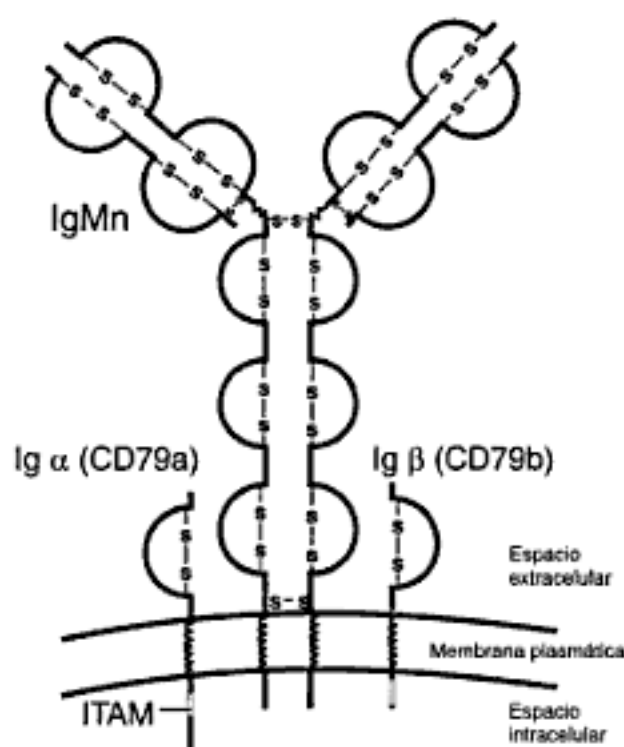


Fig. 15-12. Receptor BCR. ITAM: motivo activador basado en tirosina.

reordenado (estadio pro-B tardío) con exclusión alélica, es decir que sólo se expresa uno de los dos alelos del genoma que asegura la especificidad antigénica única; para ello se realiza en un cromosoma (se intenta en el otro cromosoma si se fracasa en el anterior y si hay fracaso en éste, en el linfocito se activa el mecanismo de muerte programada o apoptosis). Para el reordenamiento y recombinación VDJ se requiere de recombinasas llamadas RAG-1 y RAG-2, y de la enzima desoxinucleotidilo transferasa terminal (TdT). Estos linfocitos pro-B, además de tener las enzimas mencionadas, expresan una fosfatasa de tirosina transmembrana reconocida como CD45R (fig. 15-11).

Para madurar requieren la adhesión a las células estromales de la MO a través de moléculas de adhesión, como VLA-4 que se une a VCAM-1 de las células estromales, favoreciendo el contacto del receptor c-Kit de los pro-B con el factor de célula madre (SCF). Esto provoca la activación de c-Kit que es una tirosin cinasa y expresa receptores para interleucina 7 (IL-7R) que al unirse a la IL-7 producida por el estroma, maduran a pre-B y se desprenden del estroma.

En esta etapa la cadena H reordenada se expresa y se ensambla con una cadena L sustituta (formada por dos subunidades: una parecida a la región V llamada Vpre-B y otra C llamada $\lambda 5$) para dar una estructura similar a una Ig que al llegar a la membrana se asocia con el heterodímero $Ig\alpha I g\beta$ conformando el precursor del receptor B o pre-BCR que permite reconocer al linfocito correspondiente a este estadio como pre-B. El pre-BCR puede transducir señales intracelulares a través de

la proteincinasa Btk (Bruton tirosin cinasa), que intervendría en la supervivencia del linfocito B, ya que la deficiencia de esta enzima provoca acumulación de linfocitos pro-B que van a la apoptosis y trae como consecuencia la agammaglobulinemia (caso clínico).

El linfocito pre-B reordena los segmentos génicos de las cadenas L, utilizando RAG-1 y RAG-2; se ensamblan las cadenas H y L, pudiendo encontrar IgM sustituta intracitoplasmática. Cuando la IgM de membrana (IgMm) se expresa en la superficie celular, conforma el BCR (fig. 15-12) y da lugar al linfocito B inmaduro. Si en este estadio el BCR no se contacta con ningún Ag, sale de la MO y continúa su maduración en los órganos periféricos, como el bazo. Si, por el contrario, se contacta con Ag, como es el caso de los Ag propios, y la señal es fuerte de tal forma que se produzca un entrecruzamiento extensivo del BCR, el linfocito muere por apoptosis; mecanismo conocido como selección negativa (no habrá linfocitos con especificidad para responder contra esos Ag propios) o puede editar el BCR reemplazándolo por otro no autorreactivo y continuar la maduración. Si la señal es débil originando un leve entrecruzamiento del BCR, el linfocito queda en estado anérgico y pasa a la periferia sin capacidad de respuesta. Este mecanismo se conoce como tolerancia central de linfocitos B y cuando se altera, dará origen a la autoinmunidad.

A nivel periférico los linfocitos pueden contactarse con nuevos Ag propios, por lo que serán controlados por distintos mecanismos que constituyen la tolerancia periférica.

Los linfocitos que salen de la MO continúan su maduración y pasan por un estado de transición; se los conoce como linfocitos vírgenes o transicionales. En esta etapa ocurre un cambio en el transcrito del RNA primario de cadena H y produce dos RNA mensajeros (mRNA), uno que codifica la cadena μ y otro codifica la cadena δ . La traducción de estas cadenas y su posterior ensamble con las cadenas L dará origen a la IgM e IgD que se coexpresan. Hay dos subpoblaciones de estos linfocitos: los BTr1 y los BTr2.

Los BTr1 expresan un nivel alto de IgM y bajo de IgD, se encuentran en la circulación y en el bazo en la vaina linfoide perivascular, y pueden sufrir selección negativa. Los que sobreviven expresan niveles altos de IgM e IgD y son los BTr2 que se ubican fundamentalmente en los folículos del bazo. Requieren del factor activador de linfocitos B (BAFF) para sobrevivir y llegar a linfocito B maduro. Recientemente, este factor ha cobrado gran importancia en los estudios de autoinmunidad, ya que interviene en la inducción de la tole-

rancia y en la inmunorregulación manteniendo la homeostasis.

Al final de la maduración, un linfocito B contiene secuencias que codifican para una región variable de cadena pesada (VDJ) y una región variable de cadena liviana (VJ) funcionales; queda así capacitado para responder a un epítipo específico. Al contactarse los linfocitos B maduros con el Ag específico se activan, proliferan y se diferencian dando lugar a los plasmocitos productores de las Ig y a los linfocitos B de memoria. Si los linfocitos vírgenes no se contactan con el Ag, mueren por apoptosis tempranamente en unas semanas.

Cuando se produce la activación de un linfocito B a nivel periférico en los órganos linfoides secundarios, el ordenamiento o selección de segmentos del gen de la región constante generará cambios en el isotipo de la Ig a secretar para dar, como consecuencia, un cambio en las funciones efectoras del Ac sin modificar la especificidad.

RECEPTOR T, ORGANIZACIÓN Y EXPRESIÓN GÉNICA

El receptor T forma un complejo molecular conocido como TCR, que no sólo tiene especificidad para el Ag, sino también para las moléculas HLA, reconoce al péptido en el contexto del CMH; por lo tanto, este reconocimiento tiene restricción CMH. El TCR es un heterodímero formado por cadenas alfa, beta o gamma y delta que se asocia al complejo transductor de señal CD3 (fig. 15-13). Se expresan en la superficie de los linfocitos T en el orden de 10^5 moléculas.

Dado que la estructura de los heterodímeros alfa-beta o gamma-delta son similares a las de las Ig, se los clasifican como miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas. Cada cadena de un TCR tiene dos dominios de sesenta y sesenta y cinco aminoácidos con un puente disulfuro intracatenario. El dominio amino-terminal tiene amplia variabilidad (V); el de mayor variabilidad es la $V\beta$, mientras que el otro es constante (C), de forma similar a lo que muestran las Ig. Los dominios variables del TCR presentan tres regiones de hipervariabilidad de forma similar a las regiones CDR de las Ig. Las dos cadenas están unidas por un puente disulfuro en la región constante a continuación del dominio C o zona de secuencia de conexión. Luego unos veintiún a veintidos aminoácidos forman la región transmembrana que interactúan con cadenas del complejo CD3 y, finalmente, cada cadena posee una cola citoplasmática de cinco a doce aminoácidos en el extremo carboxilo-terminal. El CD3 posee

las cadenas $CD3\gamma$, $CD3\delta$, $CD3\epsilon$ y dos cadenas de $CD3\zeta$ (unidas entre sí) que intervienen en la transducción de señales, para lo cual cuentan en sus porciones intracelulares con motivos de activación ITAM (*Inmunoreceptor Tyrosine-based Activation motifs*).

Existen diferencias entre el heterodímero alfa-beta y el gamma-delta. El primero se encuentra en mayor proporción (90 al 99%), tiene mayor variabilidad, es decir que su repertorio es más grande, tiene restricción CMH y reconoce péptidos junto al HLA; la mayoría de las células T $CD4^+$ poseen alfa-beta. En cambio, el heterodímero gamma-delta tiene un repertorio pequeño, no tiene restricción CMH y reconoce Ag fosfolipídicos.

La organización genética del receptor T es similar al de las Ig. También existe un reordenamiento génico entre los segmentos génicos V, D, J en las familias de cadena beta y cadena delta, como en las H de las Ig, y de los segmentos V y J de las cadenas alfa y gamma, como en las L de las Ig. La diferencia está en las regiones constantes que en el caso de la cadena alfa del TCR posee un solo segmento génico C y la beta, dos segmentos, pero que no tienen diferencias funcionales, como el caso de los C de las Ig.

A igual que el linfocito pre-B, el pre-T expresa los genes de activación de la recombinación RAG1 y RAG2. La recombinasa RAG1/RAG2 se activa al reconocer las secuencias de heptámero y nonámero a los lados de los segmentos génicos y cataliza la unión VJ y VDJ durante el reordenamiento o rearrreglo del gen de TCR. Este proceso es importante, ya que por ejemplo en la inmunodeficiencia combinada severa (SCID) no se produce la unión DJ, lo que da, como consecuencia, tanto deficiencia de la inmunidad humoral como de la celular.

La presencia de múltiples segmentos génicos produce el repertorio del TCR menor al de las Ig.

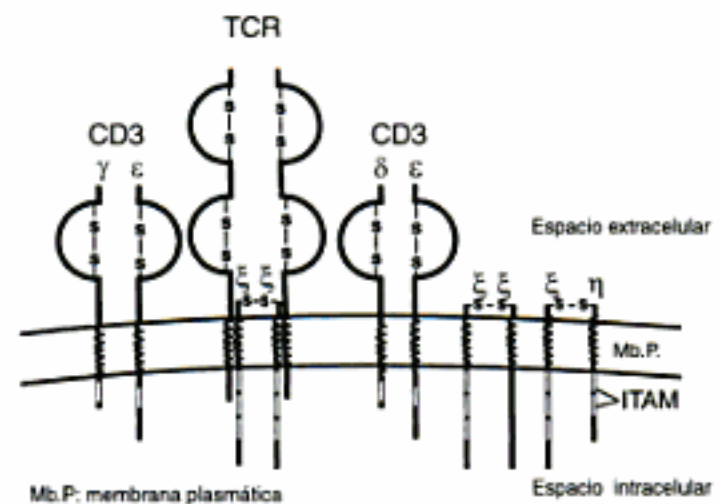


Fig. 15-13. Receptor TCR con el complejo CD3.

Así por ejemplo:

100 segmentos génicos (sg) V_{α} x 50 sg J_{α} = 5000 cadenas alfa

25 sg V_{β} x 2 sg D_{β} x 12 sg J_{β} = 600 cadenas beta

5000 cadena alfa x 600 cadenas beta = 3×10^6 TCR alfa beta

Este millón de posibilidades puede aumentar por otros mecanismos, como ocurre con las Ig, pero excepcionalmente se produce mutación somática. Esto último sería una forma de mantener los linfocitos T periféricos con igual especificidad que los linfocitos tímicos para evitar así la posibilidad de generar linfocitos T autorreactivos ante una mutación al azar. Al reordenarse los segmentos génicos pueden añadirse nucleótidos en la zona de unión, lo que genera una diversidad de unión. El reordenamiento aleatorio combinado con la diversidad de unión puede aumentar el amplio repertorio y su diversidad.

MADURACIÓN DE LINFOCITOS T

Los linfocitos T a igual que los linfocitos B se originan a partir de una célula madre pluripotencial en la MO y su maduración ocurre en el timo donde las células precursoras T comienzan a migrar desde la octava o novena semana del embarazo para alcanzar el pico máximo de producción de linfocitos T antes de la pubertad, y disminuir en forma progresiva a lo largo de la vida adulta, por la involución tímica. El número de linfocitos no se modifica sustancialmente, probablemente por proliferación de linfocitos a nivel periférico.

Las células precursoras T migran por el torrente sanguíneo desde la MO y llegan al timo a través del endotelio de vénulas poscapilares, donde interactúan con las células del estroma, para dar lugar a la proliferación y maduración. En el timo las células T en desarrollo, conocidas como timocitos, reordenan los genes de TCR de la línea germinal y expresan diferentes marcadores de membrana (fig. 15-14).

En el primer estadio los timocitos expresan CD2, pero no expresan ni el complejo TCR-CD3, ni CD4, ni CD8 característico de los linfocitos T. A estos timocitos se los conoce como dobles negativos (DN) que pasan por cuatro estadios de maduración, donde expresan distintos marcadores de superficie. En el tercer estadio se produce el reordenamiento de las cadenas γ , δ y β . Si es exitoso el reordenamiento $\gamma\delta$, este linfocito seguirá su maduración como tal, mientras que si antes es exitoso el β , se bloquea el reordenamiento $\gamma\delta$ y continúa con $\alpha\beta$, que es lo que ocurre la mayoría de las veces y

este reordenamiento se realiza con exclusión alélica. Si no es productivo, el timocito DN muere por apoptosis.

Las cadenas beta recién sintetizadas se combinan con una pre-cadena alfa de 33 kD y se asocia a CD3 para formar el pre-TCR, que recibirá la señal para continuar con la maduración a doble positivo. Se para el reordenamiento beta y disminuye la expresión de CD25 (cadena alfa del receptor de IL-2) característica del estadio de DN4.

A continuación se expresan las moléculas CD4 y CD8, por lo que se los llama dobles positivos (DP) que comienzan a proliferar con aumento del repertorio de cadena beta e inhibición del gen RAG2. Al cesar la proliferación, vuelven a expresarse RAG1/RAG2 y permiten la acción de la recombinasa para el reordenamiento génico de la cadena alfa. Cuando ésta es sintetizada y se expresa en la membrana junto con cadena beta-CD3 conforma el TCR. En este momento los linfocitos que poseen el TCR pueden realizar la selección positiva y la selección negativa de linfocitos T, proceso que se conoce como tolerancia central. Para ello es necesario la interacción con las células estromales que no sólo sirven de sostén y secretan sustancias para la proliferación celular (IL-7, SCF, SDF-1, TECK), sino que expresan moléculas HLA y son presentadoras de Ag: los macrófagos; las células dendríticas expresan HLA de clase I y II y las células epiteliales expresan HLA de clase I.

La selección positiva (SP) es el proceso por el cual los timocitos que llevan receptores capaces de unir moléculas del CMH propias son seleccionadas para continuar con la maduración (recibirían una señal intracelular de supervivencia), mientras que los que fracasan mueren por apoptosis. Ésta se realiza en la zona cortical del timo y sería dependiente de glucocorticoides que son proapoptóticos. Cuando la afinidad del receptor TCR es intermedia, daría una señal que evitaría la apoptosis mediada por corticoides.

Los timocitos seleccionados positivamente (SP) sufren un nuevo control conocido como selección negativa.

La selección negativa es el proceso por el cual los timocitos que llevan receptores de alta afinidad capaces de unir moléculas del CMH propias solas o presentando un Ag, por lo general propio, son eliminados; por lo tanto, se evita que haya linfocitos T autorreactivos, que generen tolerancia a lo propio. Más del 90 a 98% de los timocitos muere en el timo por apoptosis. Es importante la interacción con los macrófagos y células dendríticas que expresan HLA clase II y presentan Ag.

Los timocitos SP llegan a la médula tímica donde maduran a linfocitos $CD4^+ CD8^-$ y $CD8^+$

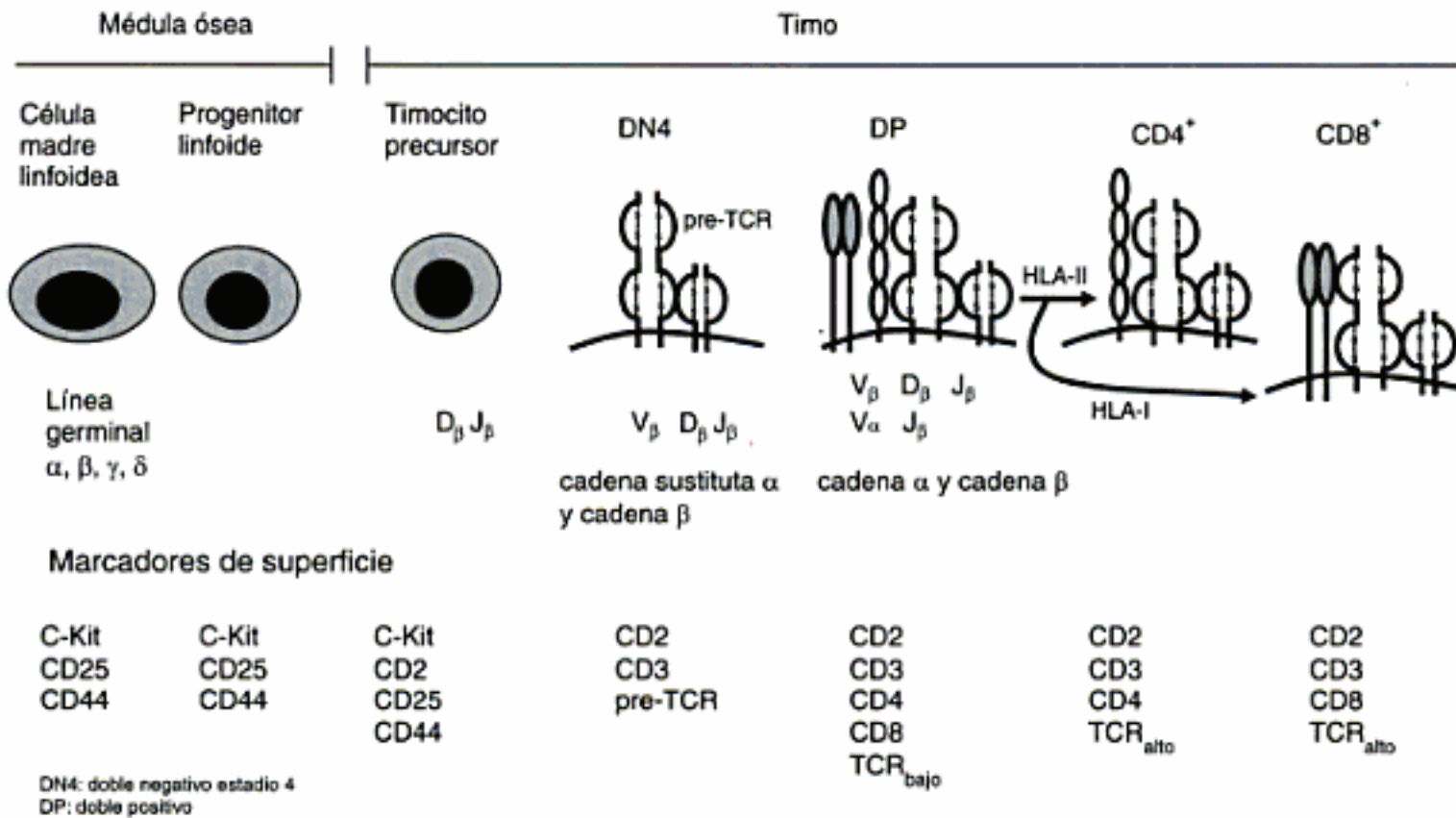


Fig. 15-14. Maduración de linfocitos T (LT) y marcadores de superficie. La mayoría de los linfocitos T maduros son LT αβ. Después del reordenamiento génico beta se produce el de alfa; si el reordenamiento génico de la cadena beta no es exitoso, pasan a reordenarse los segmentos gamma y delta, para dar lugar a los LT γδ.

CD4⁺. Existen dos teorías, una que esto ocurre al azar y otra instructiva, que postula que las interacciones múltiples entre correceptores TCR, CD8 o CD4 y moléculas del CMH clase I o II instruyen a las células para dar lugar a una u otra población. Se ha comprobado a nivel experimental que al unirse el TCR-CD3 a HLA clase II, suprimen la expresión de CD8 y dan lugar a la población linfocitaria CD4⁺, mientras que los DP que se unen a HLA clase I suprimen CD4 y dan lugar a la población linfocitaria CD8⁺. Esto explicaría por qué pacientes deficientes de HLA clase I tengan ausencia o nivel no detectable de población linfocitaria CD8⁺.

Finalmente, los linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ que superaron los controles de selección emigran del timo hacia el torrente sanguíneo y los órganos linfáticos secundarios, donde podrán activarse, proliferar y diferenciarse en células T efectoras o de memoria ante la presentación antigénica por células dendríticas con restricción CMH.

COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD. ANTÍGENOS HLA

El complejo mayor de histocompatibilidad humano se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6, donde ocupa un segmento de DNA de unas 4000 kilobases, aproximadamente unos 4 centimorgans, donde pueden producirse entrecruzamientos con una frecuencia del 4% por meiosis (fig. 15-15).

Comprende un conjunto de alrededor de doscientos genes y se clasifican en tres grupos. Los de clase I y II darán como producto los HLA que son las moléculas que intervienen en el procesamiento y presentación antigénica. Cada progenitor contribuye para el hijo con uno de los dos cromosomas que contienen la región CMH; por lo tanto, cada hijo hereda dos loci para cada HLA, uno de cada progenitor. La contribución de cada progenitor es llamada haplotipo y el fenotipo consiste en la expresión de los dos haplotipos heredados.

Los genes de clase I codifican entre otros, los HLA A, B, C, E, F, G, H. Existen numerosas variantes de estos genes, lo que se conoce como polimorfismo; los genes más polimórficos son los HLA A, B y C. Cada variante de un gen se denomina alelo y existen más de 349 alelos para HLA-A, 627 para HLA-B y 175 para HLA-C.

Los de clase II comprenden los genes que codifican los HLA DR, DQ, DP (los de mayor polimorfismo), DO, DM, y también los genes de las proteínas TAP-1, TAP-2, tapasina y de subunidades del proteosoma. (LMP-2 y LMP-7).

Los genes de clase III codifican algunas fracciones del complemento (C4, C2 y Bf), citocinas, y otros genes como el de citocromo p450 21, que codifica a la hidroxilasa para la síntesis de glucocorticoides.

Los HLA de clase I se expresan en forma codominante en la membrana de todas las células nucleadas y son responsables de la presentación endógena, mientras que los de clase II están res-

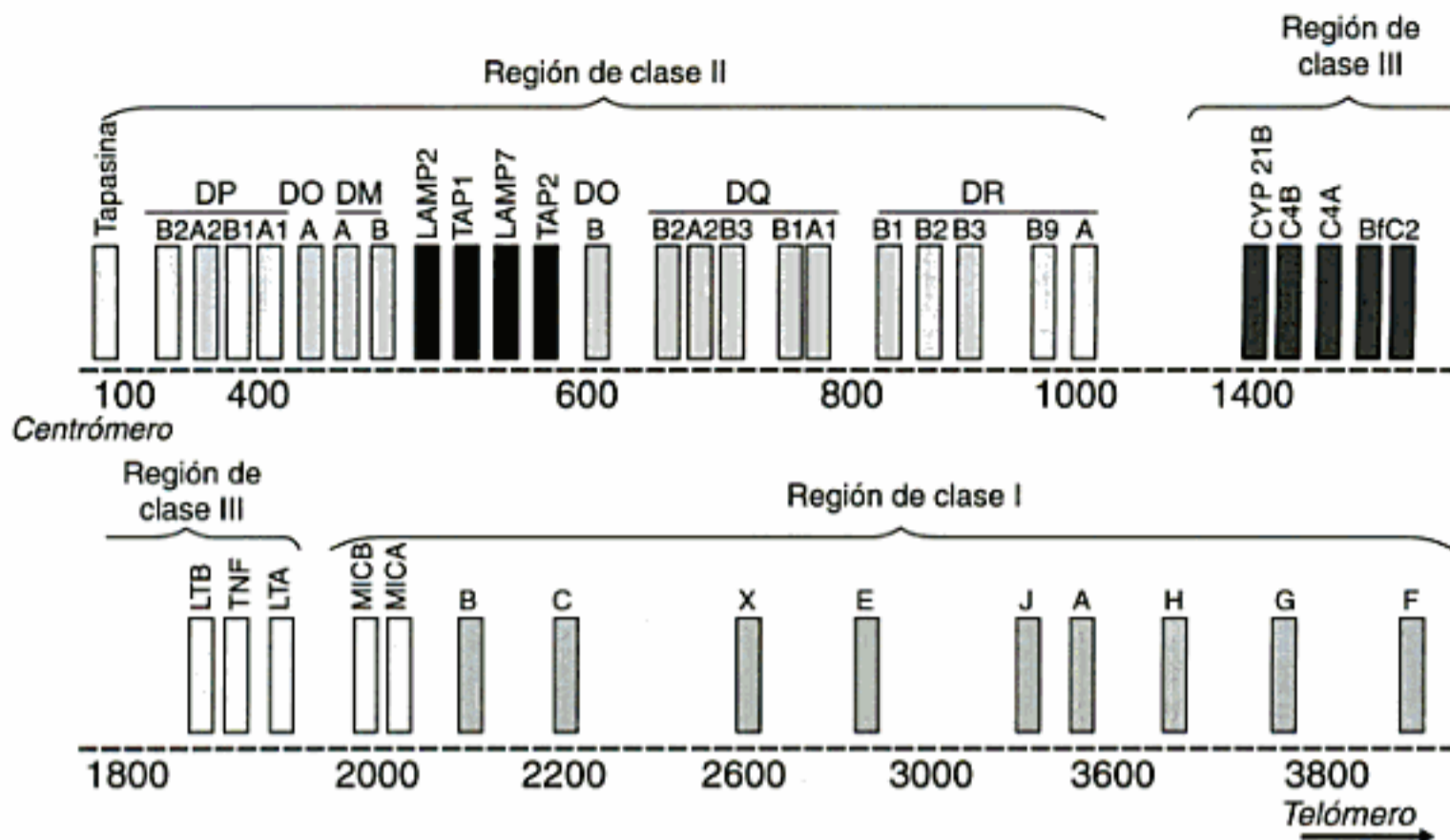


Fig. 15-15. Complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) humano. Organización de los genes del CMH en el brazo corto del cromosoma 6. Se muestran los genes más importantes.

tringidos a las células presentadoras de Ag exógenos (CPA), como macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans, células de Kupffer, linfocitos B, linfocitos T activados, epitelio tímico, células endoteliales microvasculares.

Ambos tipos de HLA poseen dos cadenas; en el caso de los de clase II son dos cadenas polipeptídicas similares entre sí: alfa (32 a 34 kD) y beta (29 a 32 kD), codificadas por diferentes genes de tipo polimórficos, mientras que los de clase I poseen una cadena alfa polimórfica (44 kD) y una cadena más pequeña conocida como *beta microglobulina* (12 kD) que no pertenece al CMH y es codificada en el cromosoma 15. Las cadenas pesadas poseen dominios similares al de las Ig y pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Las de clase II poseen dos dominios: uno N terminal o región de unión al Ag de unos noventa aminoácidos ($\alpha 1$, $\beta 1$) y un segundo dominio de igual tamaño o región similar a las Ig ($\alpha 2$, $\beta 2$), una región transmembranosa de unos veinticinco aminoácidos y la región citoplasmática carboxilo-terminal. La cadena alfa de clase I posee tres dominios: el N terminal $\alpha 1$ y el $\alpha 2$ que conforman la región de unión del Ag (unos noventa aminoácidos cada dominio) y el $\alpha 3$, no polimórfico, que junto con la microglobulina forman la región similar a las Ig, luego las regiones de transmembrana y la citoplasmática (fig. 15-16).

Funcionalmente estas moléculas son esenciales para la presentación antigénica al unirse en la región amino-terminal con el péptido resultante

del procesamiento antigénico. Cada molécula HLA se une con un solo péptido a la vez, en la región del dominio 1 en un valle molecular que sólo permite un péptido de unos nueve a once aminoácidos en los de clase I, y de unos diez a treinta aminoácidos en los de clase II. Esta zona de unión es la que presenta el mayor polimorfismo, lo que determina la especificidad y la afinidad de la unión del Ag y del reconocimiento de la célula T a través del TCR que se une al péptido y al HLA. Los de HLA de clase I son reconocidos por los linfocitos T CD8, mientras que los de clase II son reconocidos por los CD4, ya que las moléculas CD8 se unen al dominio alfa 3 de la cadena pesada de los HLA clase I, mientras que las moléculas CD4 se unen al dominio beta 2 de la cadena beta de los HLA clase II.

CÉLULAS PRESENTADORAS DE ANTÍGENOS (CPA)

Todas las células que expresan HLA en su membrana son potencialmente presentadoras de Ag al linfocito T. Sin embargo, el término de CPA queda restringido a aquellas capaces de presentar el Ag en el contexto de las moléculas HLA de clase II, a los linfocitos CD4, o bien, a este grupo de células se las llama CPA profesionales. Las CPA son células especializadas capaces de captar microorganismos u otros Ag, procesarlos, presen-

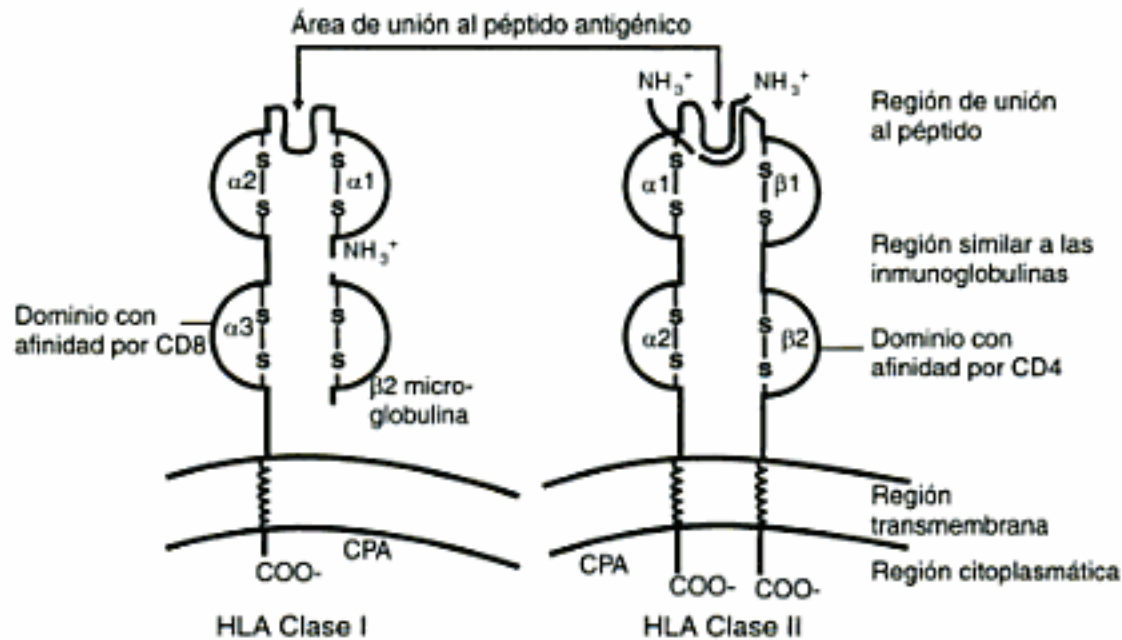


Fig. 15-16. Estructura de las moléculas HLA de clase I y II del Complejo Mayor de Histocompatibilidad.

tarlos a los linfocitos y originar señales de proliferación y diferenciación linfocitaria. Las células más importantes de este grupo son las DC que resultan más eficaces para iniciar la respuesta T, los macrófagos presentan Ag a los linfocitos CD4⁺ efectoros y los linfocitos B intervienen en la respuesta humoral presentado Ag a los linfocitos T colaboradores.

Las DC se encuentran en la mayoría de los órganos, en la piel y mucosas. Se encuentran en forma inmadura, como las células de Langerhans en la piel, pero funcionalmente aptas para captar Ag a nivel periférico y procesarlos, y mientras ocurre el proceso de maduración, migran hacia los ganglios linfáticos donde ya maduros residen en la zona T, donde presentan los Ag a los linfocitos T vírgenes. En esta etapa es importante la expresión de un receptor de quimiocina conocido como CCR7, cuyos ligandos CCL19 y CCL21 se expresan en las células endoteliales linfáticas y en las zonas T de los órganos linfáticos secundarios, para permitir la migración de las DC.

Otra función de las DC es reconocer las propiedades del fenómeno inflamatorio para madurar según el caso con patrones diferentes que podrán orientar la respuesta T hacia Th1, Th2 o generar

tolerancia. La mayoría de las DC deriva de la línea mieloide en la MO y va a poblar diferentes órganos y tejidos, de donde migran constantemente hacia los ganglios linfáticos regionales. Cuando lo hacen en condiciones basales, generan fenómenos de tolerancia a Ag propios, mientras que cuando son inducidas por estímulos inflamatorios, son reclutadas en mayor cantidad y dan un gran número de DC maduras que generan una respuesta inmune eficaz.

Los macrófagos son CPA con un papel muy importante en la fagocitosis de microorganismos y parásitos y en el procesamiento de sus moléculas antigénicas. Necesitan la acción del interferón gamma (INF γ) para aumentar eficazmente la expresión de los HLA clase II. En la fase efectora de la respuesta celular, los linfocitos T reconocen los Ag microbianos en los macrófagos y producen su activación, lo que favorece el mecanismo de lisis.

Los linfocitos B utilizan su BCR para unirse a Ag proteicos solubles e internalizarlos, procesarlos y presentarlos a los linfocitos T colaboradores. Este paso es esencial en la respuesta humoral secundaria, para que los linfocitos T produzcan las citocinas necesarias para dar lugar al cambio de isotipo de las Ig.

INMUNIDAD ESPECÍFICA, ADAPTATIVA O ADQUIRIDA

2º PARTE

RESPUESTA INMUNE

Kumiko Eiguchi

Contenidos

Reconocimiento del Ag. Activación de los linfocitos T. Fase efectora. Recuperación de la homeostasis y conservación de la memoria. Respuesta inmune humoral. Activación de linfocitos B. Respuesta primaria y respuesta secundaria. Efectores de la respuesta inmune.

Objetivos

- Describir los mecanismos de la respuesta inmune con sus fases de reconocimiento del antígeno, activación de los linfocitos, fase efectora, recuperación de la homeostasis y conservación de la memoria.
- Diferenciar las respuestas primaria y secundaria frente a antígenos proteicos.
- Aplicar dichos conocimientos en un problema concreto o caso clínico.

INTRODUCCIÓN

La respuesta inmune se caracteriza por el reconocimiento de lo propio y no propio (reconocimiento en el contexto HLA o CMH), ser específica, especializada, poseer gran diversidad, conservar una memoria inmunológica y ser regulada. Para ello intervienen diferentes niveles moleculares: el reconocimiento antigénico entre el TCR y el Ag en el contexto del HLA, las moléculas accesorias y las de coestimulación (como algunas moléculas de adhesión), transducción de señales intracelulares que darán lugar a la síntesis y la liberación y acción de las citocinas o el reconocimiento entre el BCR y el Ag con la consiguiente producción de Ac (fig. 15-17).

Para su estudio, la respuesta inmune adaptativa puede dividirse en distintas fases: a) reconocimiento del Ag, b) activación de los linfocitos, c) fase efectora, d) recuperación de la homeostasis y conservación de la memoria.

a) Reconocimiento del antígeno

Como se comentó anteriormente cada uno de nosotros posee el repertorio de linfocitos capaz de reconocer distintos Ag conocidos y por cono-

cer; por lo tanto, la entrada del Ag provocará la selección del clon o clones de linfocitos capaces de unirse a él. Este reconocimiento es dinámico y existe una adaptación molecular del Ag y del receptor del linfocito. Para que este reconocimiento tenga lugar debe ser presentado por las CPA que procesan el Ag previamente. Si el Ag es extracelular, se produce el procesamiento y presentación exógena; si, en cambio, es intracelular, como ocurre con Ag virales, de parásitos intracelulares u oncoproteínas, el procesamiento y presentación es endógena.

Presentación antigénica: la mayoría de los Ag proteicos (simples o conjugados) necesitan ser procesados y presentados a los linfocitos T a través de las moléculas HLA, y en su gran mayoría necesitan de la colaboración T-B para la producción de citocinas estimuladoras del cambio de isotipo de las Ig y su producción. Son los Ag T dependientes que pueden ser exógenos o endógenos, y darán lugar a la presentación antigénica exógena o endógena respectivamente. Ambas presentaciones tienen restricción HLA o CMH.

Los llamados **superAg** como se comentó anteriormente escapan a esta regla y pueden asociarse al HLA clase II sin ser procesados; tienen suficiente reconocimiento en la región V β de los receptores de ciertos linfocitos T, pueden unirse al HLA por su parte lateral y generar una fuerte respuesta primaria

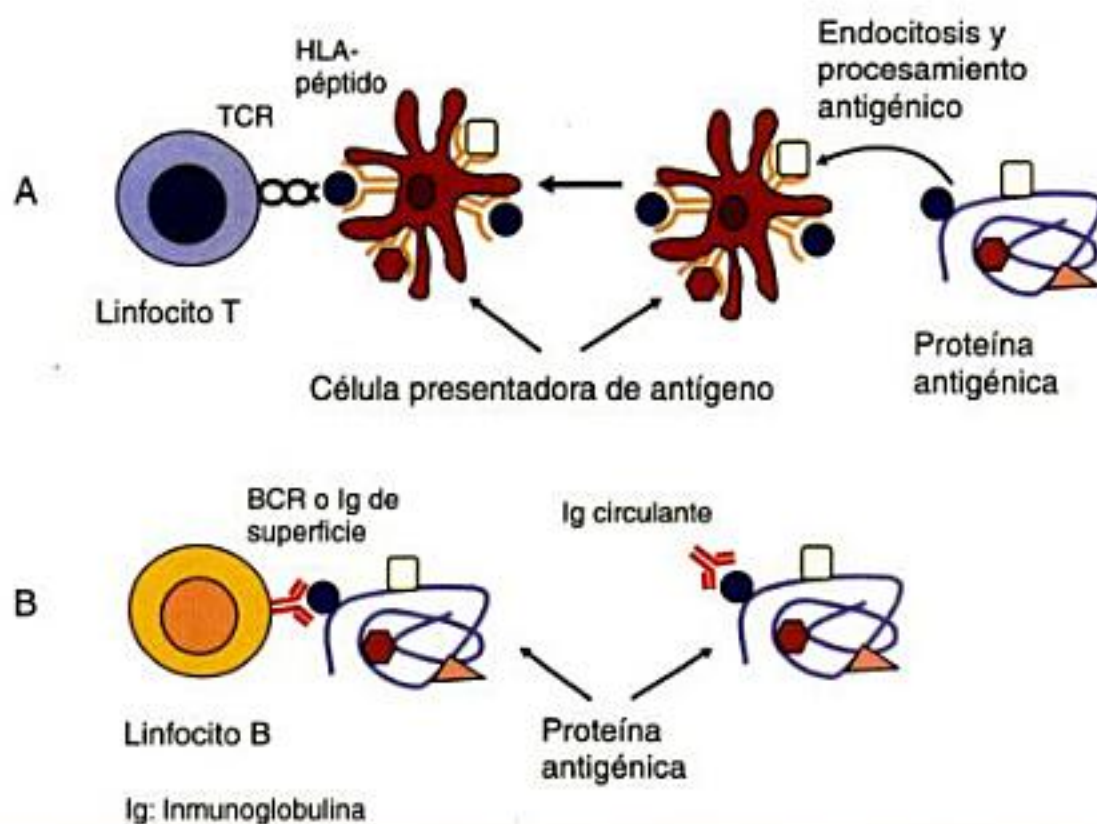


Fig. 15-17. Reconocimiento antigénico. **A.** Reconocimiento antigénico por linfocito T con restricción CMH (HLA clase II en el caso de $TCD4^+$ y HLA clase I en el caso de $TCD8^+$). **B.** Reconocimiento antigénico por linfocitos B a través del BCR o inmunoglobulina de superficie o por el anticuerpo circulante, como mecanismo efector, ya sea para neutralizar la proteína o para facilitar su fagocitosis y posterior procesamiento antigénico.

y, por otra parte, inducen la actividad de linfocitos T o B autorreactivos, o pueden provocar la alteración de la presentación de los autoAg, interviniendo en procesos de autoinmunidad.

Existen Ag que pueden ser presentados directamente al linfocito B (generalmente polisacáridos) sin colaboración de linfocitos T, que al no estimular el cambio de isotipo generan IgM específica. Son los llamados **Ag T-independientes**.

La presentación de Ag lipídicos y glucolipídicos se hace a través de **CD1** (a, b, c, d y e), una molécula similar al HLA clase I, que no pertenece al CMH y que se encuentra presente en timocitos, células dendríticas, linfocitos citotóxicos, subpoblación linfocitaria B y, en el caso del CD1d, en leucocitos y células epiteliales.

Procesamiento y presentación exógena o con restricción HLA clase II

Ya se explicó en el capítulo anterior sobre la presencia de diferentes receptores de membrana en las CPA que reconocen estructuras compartidas por muchos microorganismos o receptores para opsoninas, que favorecen la **endocitosis** o **fagocitosis** de los Ag extracelulares. Estos Ag también pueden ser internalizados por **macropinocitosis**, un proceso que no requiere la unión con receptores y que desarrollan especialmente las células dendríticas (DC),

aunque los macrófagos pueden realizarlo cuando se activan. Cuando un Ag es fagocitado, endocitado o internalizado por pinocitosis, por la CPA, por ejemplo por la DC, se produce su procesamiento. El Ag es degradado en pequeños péptidos por proteólisis en el endosoma o lisosoma, que tienen un pH ácido, esencial para el procesamiento, por acción de enzimas lisosomales como catepsina y leupeptina.

Mientras tanto se produce un aumento de la síntesis de moléculas de HLA clase II en el retículo endoplásmico (RE), donde se le unen una proteína Ii o cadena invariante que es un trímero que al unirse a las moléculas HLA recién sintetizadas impide que se le unan péptidos del RE y puedan ser presentados. También favorece el plegamiento y ensamble de la molécula de HLA y el transporte hacia las vesículas endosómicas, donde se encontrarán con los Ag procesados. Durante su paso hacia la membrana celular, las vesículas exocíticas que llevan los HLA clase II fuera del RE se unen a las vesículas endosómicas. Allí Ii es cortada por las enzimas proteolíticas, como la catepsina S, y da un péptido pequeño llamado CLIP (péptido de la cadena invariante asociado a clase II). El CLIP queda unido a la hendidura de la zona variable del HLA clase II. Una molécula HLA DM, que corresponde a clase II pero que no se expresa en la membrana y no es polimórfica, interviene como intercambiador del CLIP y el péptido antigénico; por lo tanto, libera el CLIP y permite que en su lugar se

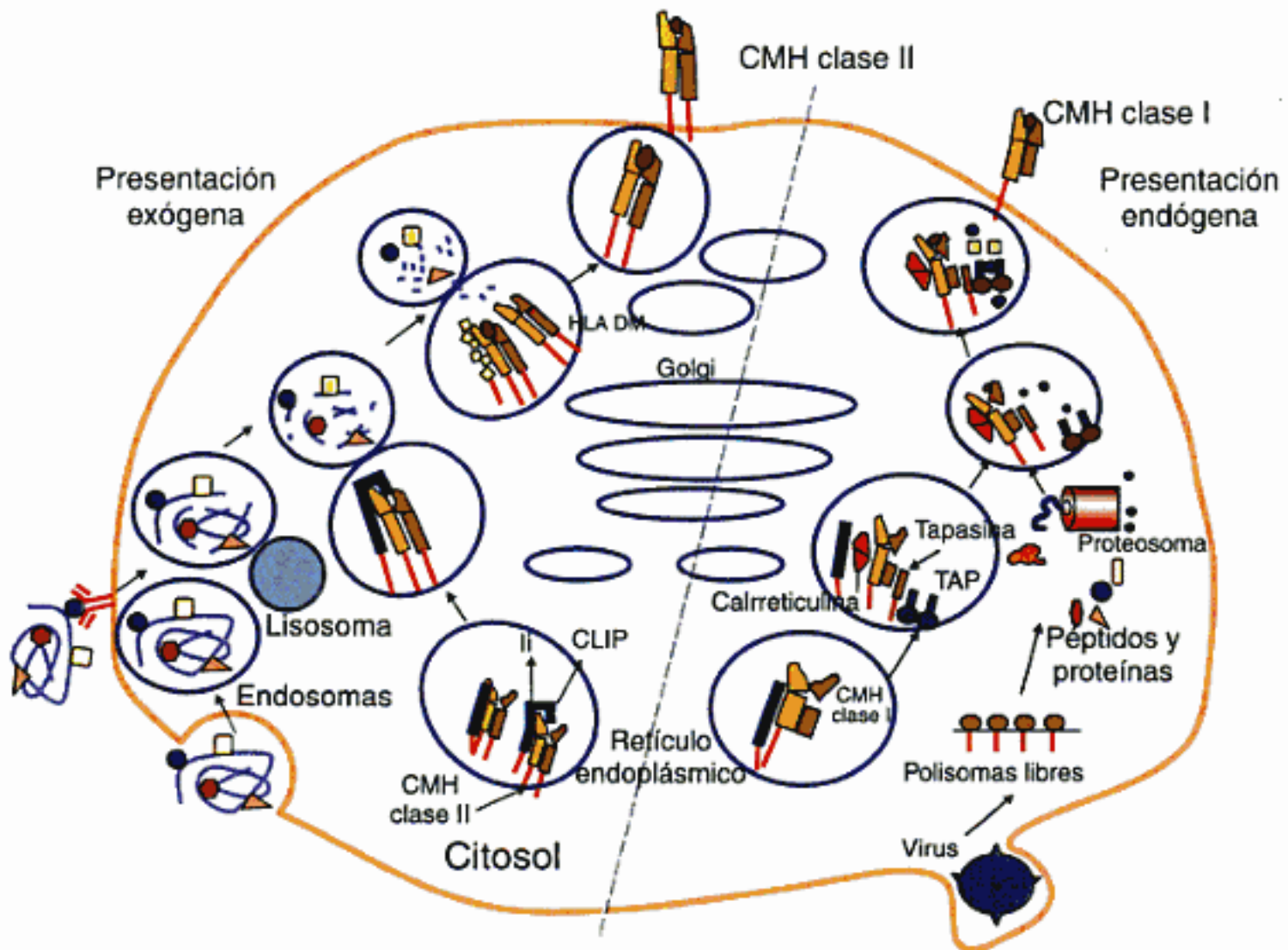


Fig. 15-18. Vías de presentación exógena y endógena con restricción CMH.

una uno de los péptidos obtenidos por la proteólisis del Ag. De esta manera, los HLA de clase II llevan unido el péptido antigénico y se expresan en la superficie celular para ser presentados a un linfocito $CD4^+$ (fig. 15-18).

Los linfocitos T $CD4^+$ pueden unirse a los HLA de clase II y al Ag; por lo tanto, los linfocitos $CD4^+$ capaces de reconocer el Ag en el contexto del HLA serán los que se unan a la CPA, para originar la respuesta inmune. Estos linfocitos específicos tienen alta sensibilidad y necesitan reconocer muy pocos complejos HLA-péptido (con unos cien es suficiente) para activarse y generar una respuesta inmune; por lo tanto, no afecta el hecho que permanentemente los HLA presenten distintos péptidos derivados del procesamiento de proteínas propias.

Procesamiento y presentación endógena o con restricción HLA clase I

En la presentación endógena, los Ag procesados se encuentran en el citoplasma celular. Esto es útil para aquellos casos de infecciones intracelulares o transformaciones tumorigénicas. Los Ag proteicos sufrirán una proteólisis, vía ubiquitina por un complejo multienzimático llamado proteosoma

que es estimulado por $IFN\gamma$ cuyas dos subunidades catalíticas (LMP2 y LMP7) son codificadas entre los Ag de clase II. Por acción de este sistema se generan péptidos más pequeños (5-11 aminoácidos), que se unirán al HLA de clase I.

Los HLA de clase I son sintetizados en las células nucleadas en el RE y transportados por las proteínas TAP1 y TAP2 hacia el encuentro con los péptidos que puedan unirse, previa liberación de TAP. TAP1 y TAP2 son estimuladas por $IFN\gamma$ y son codificadas en el CMH cerca de los genes de LMP2 y LMP7. En el lado luminal del RE, TAP se une al HLA clase I a través de una proteína llamada tapasina, que también se codifica en la región clase II del CMH. Cuando el péptido se une al HLA clase I, se desprende de la tapasina y se mueven a través del Golgi hasta ser expresados en la membrana celular para ser presentados a los linfocitos $CD8^+$ (fig 15-18). Probablemente los HLA que no se unan a péptidos se degraden en el RE debido a su inestabilidad.

Los linfocitos T $CD8^+$ pueden unirse a los HLA de clase I; por lo tanto, los linfocitos $CD8^+$ capaces de reconocer el Ag en el contexto del HLA serán los que se unan a la célula blanco, para originar la lisis de ésta, generalmente por apoptosis (acción citotóxica sobre la célula diana, que pre-

senta el Ag en el contexto de HLA clase I). Para que esta respuesta sea más eficaz requiere de la actividad de citocinas liberadas por T helper, por lo que debe también existir una presentación exógena del mismo Ag.

En ambos tipos de presentaciones seguirá un proceso de reconocimiento entre la célula que presenta el Ag unido al HLA y el TCR junto a un grupo de moléculas accesorias y de coestimulación presente en la membrana de ambas células, para dar lugar a la trasducción de señales y activación del linfocito T.

b) Activación de los linfocitos T

Una vez reconocido el Ag, los linfocitos requieren una **doble señal de estimulación**. La primera señal está dada por el **reconocimiento de los TCR del péptido antigénico unido al HLA**, que asegura la especificidad de la respuesta. Desencadenan vías de señalización intracelular que inducen la síntesis de factores de transcripción que activan distintos genes de los linfocitos. La segunda señal

o **señal de coestimulación** es activada por microorganismos o por factores de la inmunidad innata y asegurarían que la respuesta ocurra ante la presencia de patógenos y no contra Ag propios. La vía de señal de coestimulación mejor conocida es la que se produce con la unión de CD28 presente en los linfocitos T y las glucoproteínas B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86) expresadas en las CPA activadas. Cuando B7-2 se une a CTLA-4, resulta una vía de estimulación importante en la autotolerancia (regulación negativa de la respuesta inmune) (fig. 15-19).

Los linfocitos T vírgenes se activan en los órganos linfáticos secundarios y tejidos linfáticos periféricos produciendo la **expansión clonal** de esos linfocitos que se **diferenciarán** en linfocitos T **efectores** y linfocitos T de **memoria**. Las mejores CPA para los linfocitos T CD4⁺ vírgenes (Th0) son las **células dendríticas** ricas en moléculas coestimuladoras que transportan los Ag a los ganglios linfáticos, donde se realizará la presentación y activación linfocitaria. Los macrófagos y los linfocitos B pueden hacerlo, pero no son tan eficientes; en cambio sí son buenas CPA de linfocitos efectores y de memo-

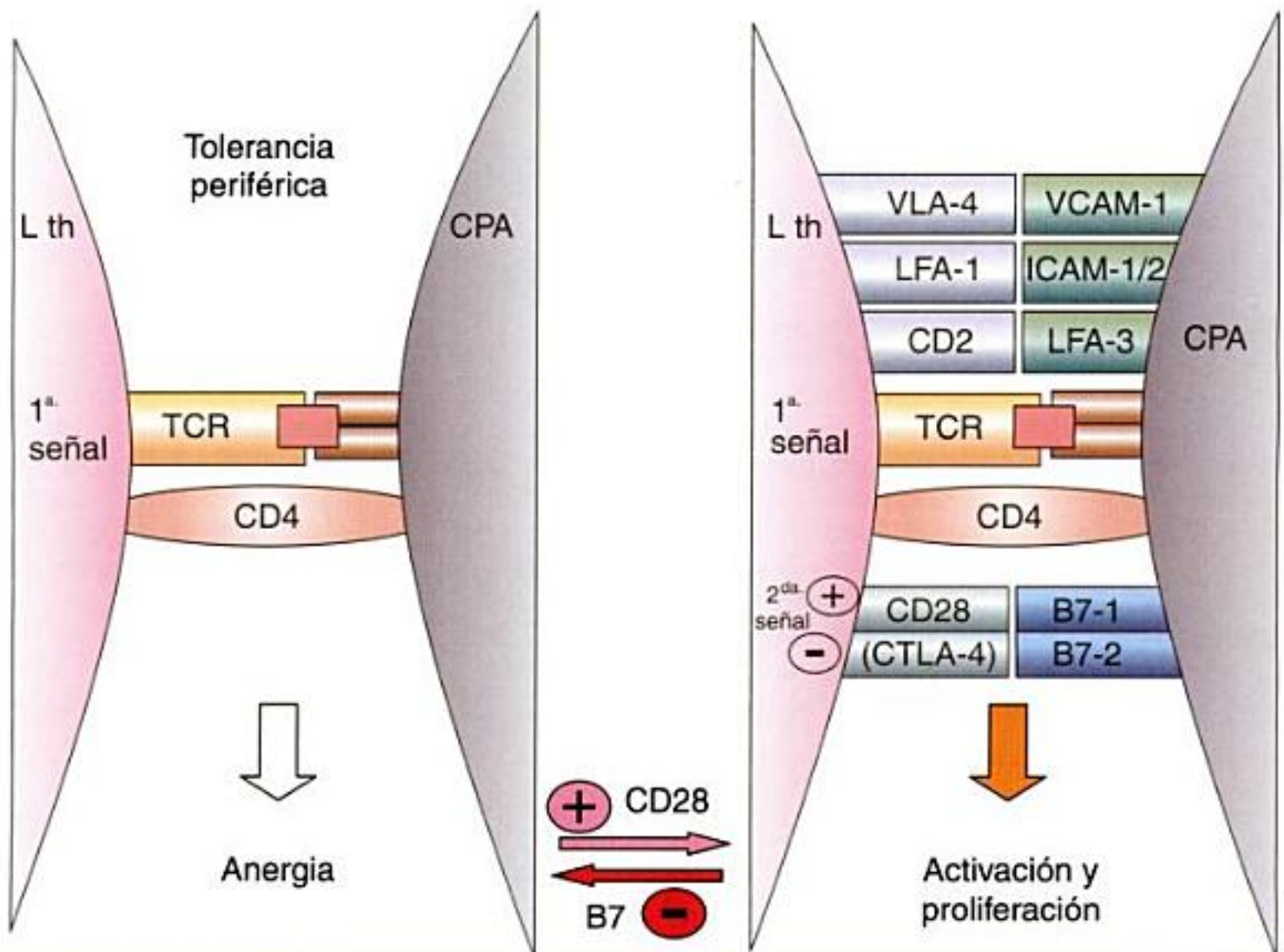


Fig. 15-19. Doble señal de estimulación. La ausencia de señal de coestimulación a través de la unión de CD28 y B7 provoca anergia linfocitaria, mientras que su unión da la señal de activación y proliferación. Ésta se inhibe con la unión de B7-2 con CTLA-4. B7 favorece la inhibición mientras que CD28, la activación. L Th, linfocitos T colaboradores (helper).

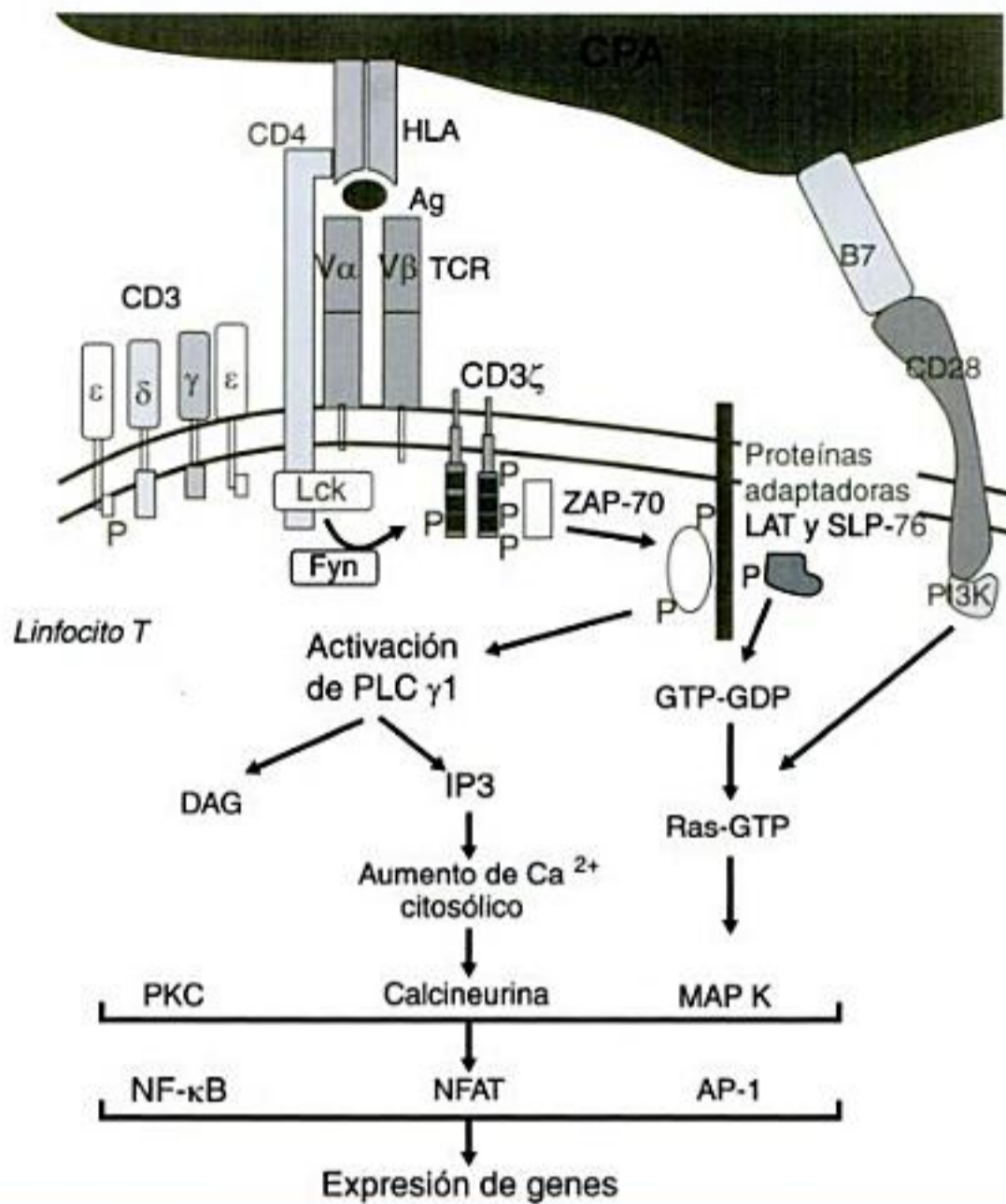


Fig. 15-20. Transducción de señales en el linfocito T activado. Luego del reconocimiento antigénico por el TCR, la señalización depende de CD3, cuyas cadenas intracelulares poseen los motivos ITAM. La fosfatasa CD45 defosforila y activa a las tirosincinasas Lck y Fyn, que fosforilan a ITAM. Esto permite la unión y activación de la tirosincinasa Zap-70 que fosforila y activa a las proteínas adaptadoras LAT y SLP-76. Luego de la activación de otras proteínas y enzimas unidas a LAT, se activa la fosfolipasa C γ y RAS que mediarán las vías de señalización para la activación de los factores de transcripción NF- κ B, NFAT, AP-1, para la expresión de genes de citocinas y otras proteínas. La coseñal producida por la unión CD28 con B7.1 o B7.2 activa Lck y PI3K que converge en la vía RAS (RAS-RAF-ERK).

ria tanto en tejido linfático como en otros tejidos. Todo este proceso es favorecido por la unión de las dos células a través de moléculas de adhesión, como las integrinas. La zona de contacto entre ambas células se la conoce actualmente como **sinapsis inmunológica**. Los cambios que ocurren en la sinapsis se manifiestan por la llegada de las moléculas del TCR, el correceptor CD4 o CD8, receptores coestimuladores, como el CD28, moléculas de adhesión, citocinas, enzimas. La correcta interacción de las moléculas disparan las vías de señalización intracelular con fenómenos de membrana (activación de tirosinquinasa y fosforilación de proteínas del TCR), activación de enzimas citoplasmáticas (ERK, JNK, PKC, calcineurina) que activan factores de transcripción como NF- κ B, AP-1, NFAT

que darán lugar a un aumento de la transcripción de genes, como por ejemplo los de citocinas con su consiguiente síntesis y liberación (fig. 15-20). La acción de citocinas dirige la fase efectora.

c) Fase efectora

Es la fase de respuesta donde se secretan citocinas y se produce la proliferación y la diferenciación de los linfocitos Th. La primera citocina secretada por los Th0 es la IL-2 que actúa como factor de crecimiento linfocitario, con efecto autócrino, ya que la IL-2 actúa sobre los propios receptores de IL-2 expresados por los linfocitos Th. La IL-15 secretada por las CPA y otras células tiene

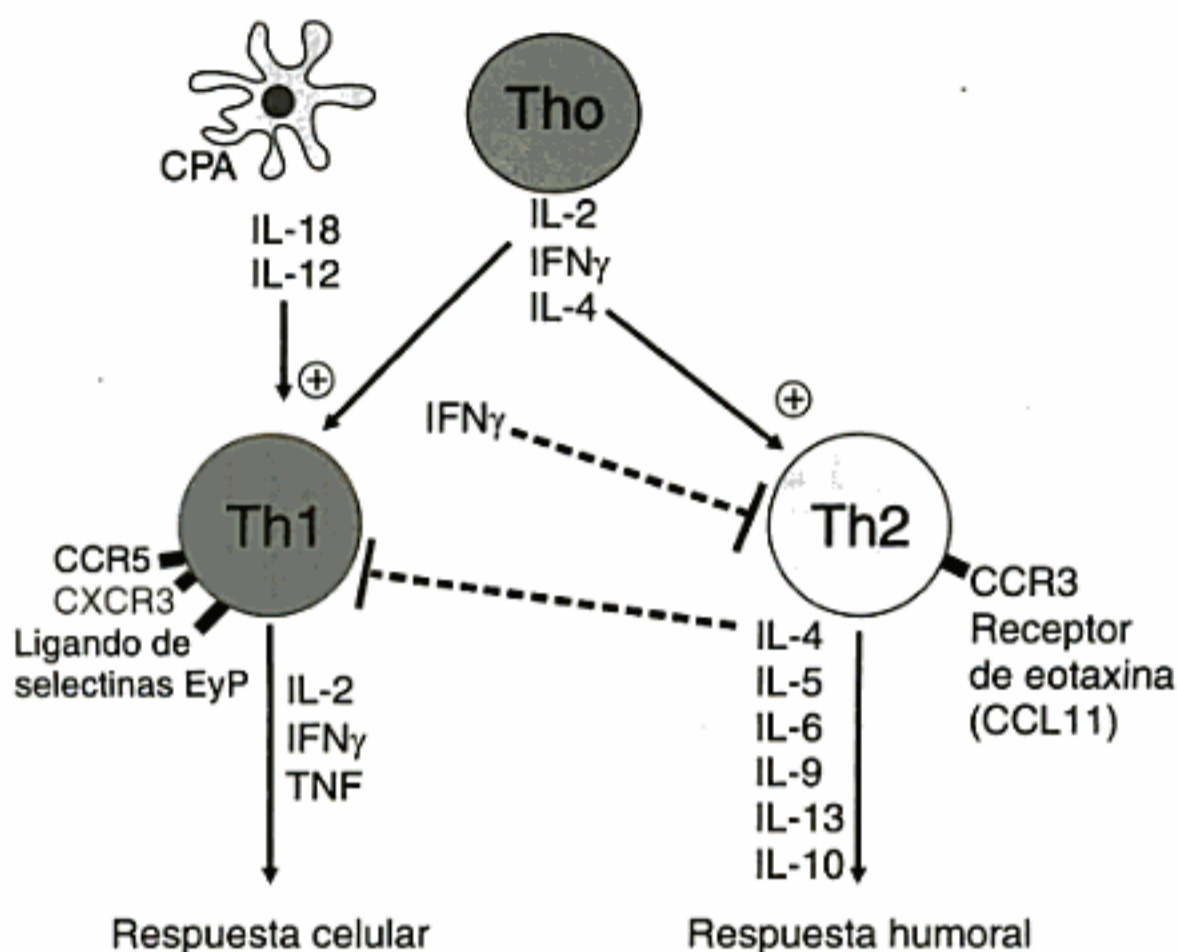


Fig. 15-21. Diferenciación de linfocitos $CD4^+$ desde su precursor a Th1 y Th2. Las líneas punteadas indican inhibición.

un efecto similar a la IL-2 (y estimula también linfocitos $CD8^+$ y linfocitos de memoria $CD8^+$). Luego los linfocitos se diferencian en distintas subpoblaciones efectoras, como las Th1 y Th2, reconocidas por las citocinas que producen y la línea Th reguladora productora del factor de crecimiento transformante beta ($TGF\beta$), que posee el factor regulador de la transcripción FoxP3. Es interesante la maduración de esta subpoblación, ya que en ausencia de IL-6 da lugar a la proliferación de linfocitos con esas características, pero ante la presencia de IL-6 deriva a una tercera subpoblación efectora que aumenta ante la ausencia o la disminución de citocinas de Th1 y Th2, y que ha cobrado gran importancia en los últimos años como pro-autoinmunidad, que es la Th17, productora de IL-17 e IL-6. La síntesis de IL-17 a su vez es estimulada por IL-23 (fig. 15-21 y fig. 15-22).

Las **citocinas** son polipéptidos o proteínas liberadas por las células del sistema inmune y sus accesorias, que se unen a un receptor celular específico, para originar una función o transformación.

Comprende a los llamados interferones, las interleuquinas (ILs), los factores de crecimiento, los factores de necrosis tumoral (TNF) y las quemoquinas o quemoattractantes celulares.

Cuando la CPA procesa el Ag, se encuentra activa y libera IL-1, TNF alfa e IL-12, que son esencialmente citocinas proinflamatorias y, además,

favorecen la diferenciación de las células T y, en el caso de la IL12, es activadora de las células NK.

Cuando los linfocitos $CD4^+$ se diferencian en Th1 y Th2, liberan citocinas que se encuentran en equilibrio por mecanismos regulatorios; así por ejemplo $IFN\gamma$ producido por las Th1 inhiben a Th2, mientras que IL-4 producida por Th2 inhibe a Th1.

Los Th1 liberan IL-2, IFN gamma y TNF beta. La IL-2 va a estimular a todo el sistema, incluyendo la cooperación de B, pero esencialmente junto con el IFN gamma estimulan la respuesta de tipo celular: estimulan a los macrófagos, linfocitos T $CD8^+$ citotóxicos, células NK.

Los Th2 liberan IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, IL-10. Éstas favorecen la diferenciación y la activación de linfocitos B con producción de Ig.

La IL-4 es inhibidora de Th1. Junto con la IL13 estimula el cambio para IgE y activa mastocitos (que también producirán IL-4).

La IL-5 estimula el cambio para IgA y activa eosinófilos, es quimiocinética para ésta (estimula la llegada de eosinófilos).

La IL-6 estimula la transformación y activación de linfocitos B con producción de Ig y la síntesis de proteínas de fase aguda.

La IL-9 estimula la maduración de mastocitos.

La IL-10 es un inhibidor de Th1 y de la presentación antigénica. La presencia de IL-10 sobre los linfocitos Th reguladores dará origen a

formado por una cadena beta común y una cadena alfa específica de isotipo, responsable de la transducción de señales de activación. Una baja proporción de linfocitos pueden tener BCR con los otros isotipos de Ig. Los plasmocitos son la forma final del linfocito B activado que ya tiene reordenado el gen de la Ig que va a traducir y son ellos los secretores de la Ig con actividad de aAc con la especificidad de la Ig de membrana.

ACTIVACIÓN DE LINFOCITOS B

La activación de linfocitos B se produce cuando el Ag se une al BCR de los linfocitos B maduros vírgenes (LB0) en los órganos linfáticos secundarios o periféricos. El correceptor, formado por las moléculas CR2 (CD21), CD19 y TAPA-1 (CD81), recibe una segunda señal al unirse CR2 con el componente C3d del complemento, que permanece unido a la membrana de las bacterias o células (fig. 15-23). Esta unión estimula a distintas cinasas que fosforilan a la molécula CD19 y se desencadena la cascada de

señales intracelulares para activar a los factores de transcripción. Se produce la activación y la proliferación o expansión clonal, y la transformación celular que genera linfocitos B de memoria y linfocitos efectores. Éstos se transforman en plasmocitos secretores de Ig. Por la acción de citocinas, algunos linfocitos producen el cambio de isotipo y sintetizan otras Ig (IgG, IgA, por ejemplo), para lo cual necesitan de los linfocitos T colaboradores, como se comentó anteriormente. El TCR del linfocito cooperador reconoce el Ag presentado por el linfocito B junto al HLA clase II y se produce el contacto entre ambas células, con liberación de citocinas, especialmente de Th2. La IL-6 estimula la transformación de linfocitos B y la producción de Ac; IL-4 e IL-13 estimulan el cambio para IgE, IL-5 y TGF- β para IgA y el INF- γ , producido por Th1, favorece el cambio para IgG2a e IgG3.

Es fundamental la interacción del CD40 presentes en los linfocitos B y su ligando, el CD40L, en los linfocitos T. Su ausencia impide el cambio de isotipo, como se ve en la inmunodeficiencia primaria conocida como síndrome de hiper IgM.

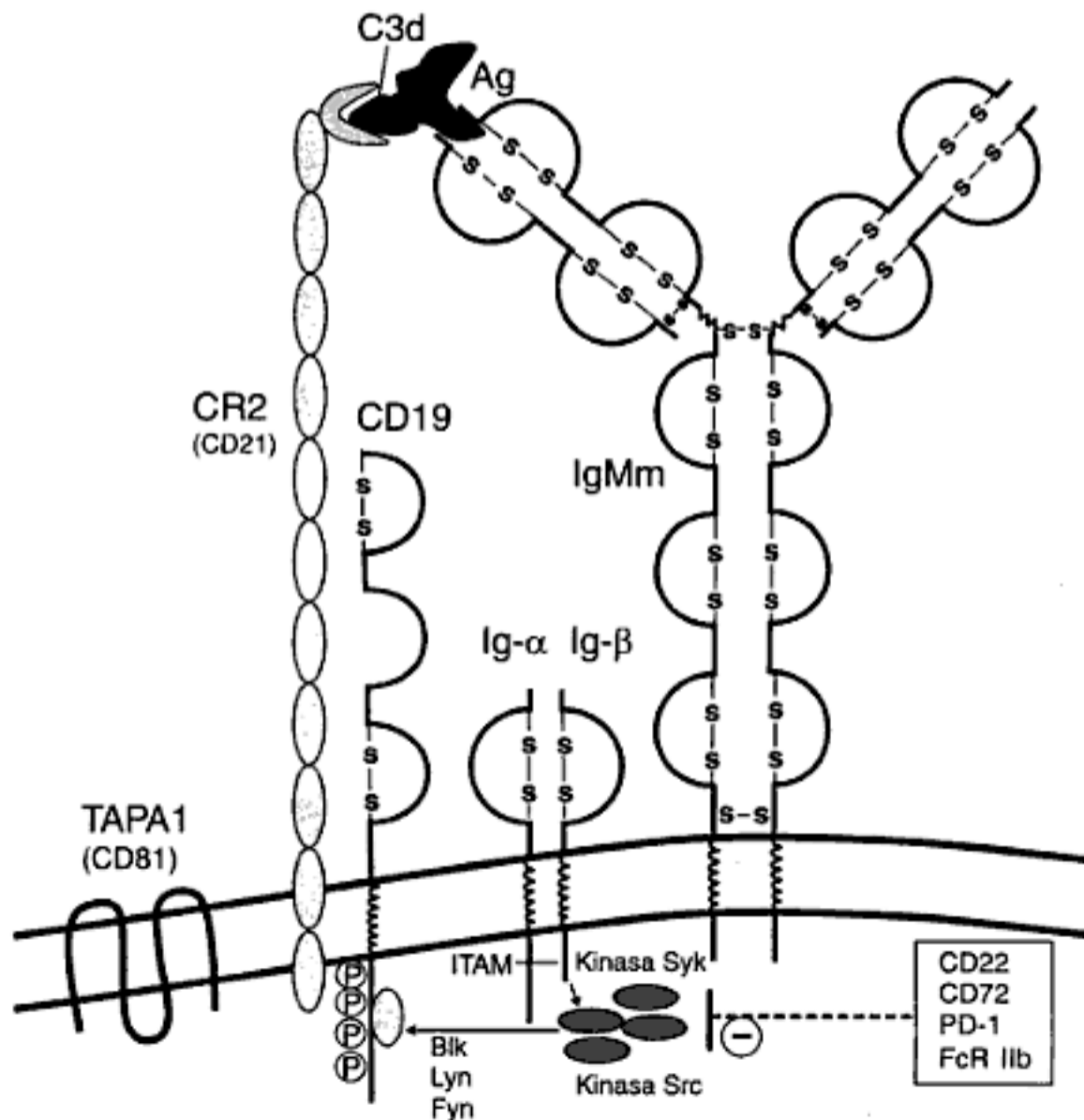


Fig. 15-23. Correceptor de linfocitos B. Está formado por las moléculas TAPA-1 (CD81), CR2 (CD21) y CD19. La unión de CR2 con C3d que recubre al Ag provoca la fosforilación de CD19 y desencadena la vía de señalización intracelular. CD22, CD72, PD-1 y FcR γ IIb inhiben la señal.

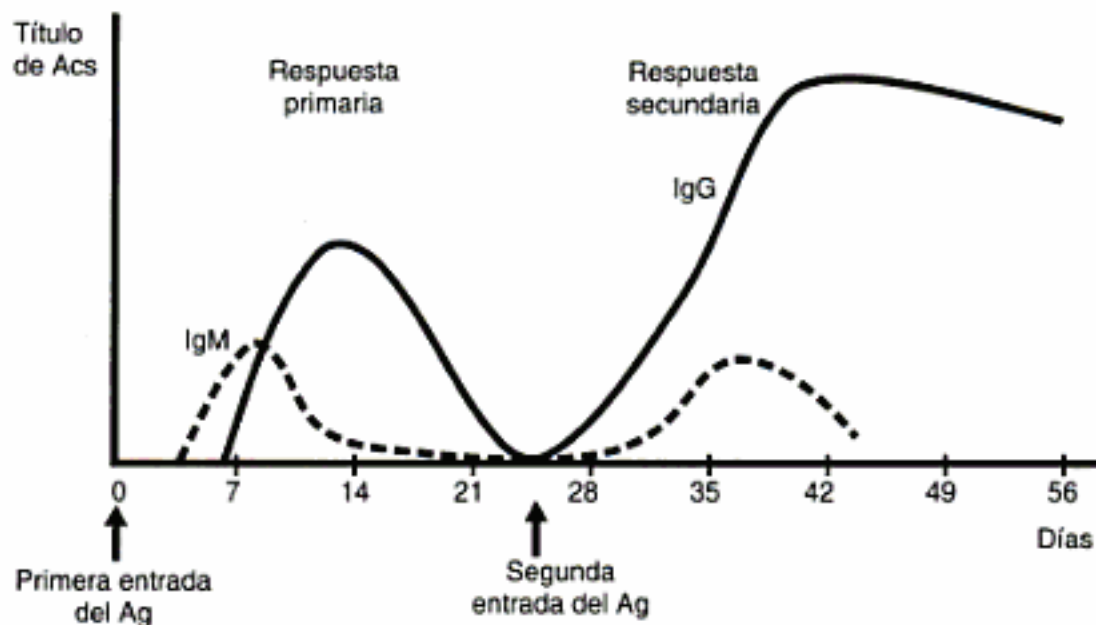


Fig. 15-24. Respuestas inmunes primaria y secundaria.

RESPUESTA PRIMARIA Y RESPUESTA SECUNDARIA

Cuando un Ag es presentado por primera vez, se desencadena la respuesta inmune y, como resultado, habrá una respuesta celular y humoral con la producción de Ac específicos y linfocitos de memoria.

Los primeros Ac serán de tipo IgM y tipo IgG de baja afinidad. Tardarán en producirse, según el Ag, la vía de entrada y el procesamiento y presentación de éste. Habitualmente es de unos cinco a ocho días. Estas características corresponden a la respuesta primaria. Esta respuesta puede mejorar con la utilización de adyuvantes. Todos los tipos de Ag generan este tipo de respuesta.

Cuando el Ag ingresa por segunda vez o más, la respuesta será más rápida (48 hs), debido a la memoria inmunológica, y se producirá mayor concentración de IgG, cuya tasa perdurará en el tiempo, por lo cual es más duradera. Los desafíos antigénicos producen en los segmentos génicos (V) variables de las Ig rápidas mutaciones que generan IgG de mayor afinidad. Este mecanismo se conoce como maduración de la afinidad por hipermutación somática de las zonas variables de las Ig (fig. 15-24).

La respuesta es entonces más eficaz y se la conoce como respuesta secundaria; es importante como fundamento de los planes de vacunación. Los adyuvantes no modifican mucho la respuesta secundaria. Este tipo de respuesta sólo la dan los Ag proteicos, pues requieren de la colaboración T (Ag T dependientes).

Es importante saber que la segunda entrada de Ag debe producirse cuando disminuye su concentración y de los Ac de la respuesta primaria, ya que si se inyecta de forma repetida, en pequeñas concentraciones, la persistencia del Ag puede generar

un fenómeno de tolerancia, y con ello la inhibición de la producción del tipo de Ac que se desea.

Efectores de la respuesta inmune

En resumen, los efectores de la respuesta humoral son las Ig con función de Ac producidos por los plasmocitos, forma madura de los linfocitos B activados. Estas inmunoglobulinas se unirán al Ag en el medio extracelular y pondrán en marcha los mecanismos de eliminación de éste. **En las mucosas es la IgA secretora la efectora más importante.**

Los efectores de la respuesta celular son esencialmente los linfocitos Th que colaboran en la respuesta inmune con la producción de citocinas, y los linfocitos Tc que reconocen la célula blanco a través de la presentación antigénica endógena y la destruyen activando el mecanismo de **apoptosis** o muerte celular programada, donde la célula se retrae, se separa del resto y muere por destrucción del material nuclear. En algunos casos la destrucción es por **necrosis**, en cuyo caso se destruye la membrana celular y la célula estalla liberando componentes proinflamatorios.

En ciertos procesos infecciosos las distintas citocinas e Ig producidas en la respuesta adaptativa estimulan también los procesos de la inmunidad innata para favorecer la lisis con la intervención de células NK, o por fagocitosis o acción del complemento en una forma más eficaz que en la respuesta innata sola.

Por lo expuesto, **la respuesta adaptativa contra las bacterias extracelulares es esencialmente la respuesta humoral.** Por lo tanto, ante infecciones piógenas a repetición, la orientación del estudio inmunológico se centra esencialmente en el sector humoral, complemento y fagocitosis. Mientras que **para los patógenos intracelulares, es importante la respuesta celular.**

Resumen

A diferencia de la inmunidad innata, la inmunidad adaptativa se adquiere al contactarse con un inmunógeno y requiere mayor tiempo (alrededor de una semana) para responder, dado que median mecanismos de presentación y reconocimiento antigénico, activación y proliferación de las células respondedoras (linfocitos T y B), y producción de sustancias efectoras (citocinas y anticuerpos respectivamente) que actuarán específicamente en respuesta al antígeno (Ag). Pueden distinguirse entonces *la inmunidad celular y la inmunidad humoral*. En la primera intervienen los linfocitos T que se diferencian en subpoblaciones de linfocitos T reguladores, linfocitos T efectores que a su vez se diferencian en linfocitos T citotóxicos (Tc), reconocidos por el marcador CD8, y linfocitos T colaboradores o helper (Th) que poseen la molécula CD4 y se caracterizan por la producción de citocinas y, por último, los linfocitos T de memoria. En la respuesta humoral intervienen los linfocitos B efectores que darán origen a las células plasmáticas o plasmocitos capaces de secretar las distintas inmunoglobulinas (Ig) (IgM, IgD, IgG, IgE e IgA) con función de anticuerpos (Ac) y los linfocitos B de memoria.

Se caracteriza por una alta capacidad de reconocimiento debida a la gran variabilidad de linfocitos T y B existente en cada individuo, aproximadamente 10^{11} linfocitos diferentes que poseen receptores llamados TCR y BCR respectivamente, con una especificidad antigénica única, que constituyen el llamado *repertorio linfocitario* del individuo. Por lo tanto, la presentación de un Ag lleva a seleccionar el o los linfocitos capaces de reconocerlo específicamente para dar la respuesta inmunológica. Por ello puede decirse que *la inmunidad específica se basa en la selección clonal de los linfocitos T y B*.

La gran variabilidad se debe al rearreglo o reordenamiento genético que se produce durante la maduración de los linfocitos en los órganos linfoides primarios (timo: linfocitos T y MO: linfocitos B) del receptor T y de las inmunoglobulinas (Ig), que generan el amplio repertorio de especificidades, donde el de las Ig es mucho más amplio. Por otra parte, esta variabilidad aumenta con las mutaciones somáticas en los genes de Ig, durante el proceso de maduración de la afinidad que se produce ante las posteriores exposiciones al mismo Ag (respuesta secundaria). El receptor T no sufre mutaciones somáticas. Una vez concluida la maduración, los linfocitos migran a los órganos linfoides secundarios: bazo, ganglios linfáticos y tejido linfático asociado a mucosas (MALT).

Para la maduración de los linfocitos se requieren distintos factores y citocinas, como el c-kit, TdT e IL-7, y en el caso de los T se requiere de las hormonas tímicas entre otros. Durante este proceso se produce el fenómeno de *tolerancia central*, por el cual los linfocitos son seleccionados de tal forma que aquellos que no sean capaces de responder adecuadamente o que puedan responder contra los Ag propios son eliminados por el mecanismo de muerte celular programada o apoptosis. En el timo se produce primero la *selección positiva*, donde los timocitos que no adquieren el TCR o cuando éste no reconoce las moléculas HLA (*Human Leucocyte Antigen*) son eliminados y sólo aquellos cuyo TCR se une al HLA son seleccionados. Luego se produce la *selección negativa*, por la cual los timocitos cuyos TCR se unen con alta afinidad a moléculas HLA solas o unidas a péptidos antigénicos presentados por las células estromales son eliminados. Durante este proceso más del 95% de los timocitos muere por apoptosis. Los timocitos que superan la selección maduran a linfocitos T para ir a la periferia, donde pueden sufrir otros fenómenos de *tolerancia periférica*, y aseguran que aquellos linfocitos potencialmente autorreactivos puedan ser eliminados.

Los Ag proteicos y, en general, la mayoría de los Ag son presentados en los órganos linfoides secundarios a los linfocitos T por las llamadas células presentadoras de antígenos (CPA) profesionales (células dendríticas, macrófagos, linfocitos B, las más importantes) a través de las moléculas HLA de clase II, por lo que se señala que es una presentación antigénica en el contexto del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH), donde se encuentran los genes de dichas moléculas HLA. Esto activará a los linfocitos para dar origen a una respuesta específica celular o humoral. Cabe aclarar que la MO puede comportarse como órgano primario y secundario.

Las CPA procesan los Ag exógenos generando pequeños péptidos que se unen a las moléculas HLA clase II y se expresan unidas a ellas en la superficie celular para ser reconocidas por linfocitos Th. Una vez unido el TCR específico al Ag y al HLA de clase II se produce una primera señal intracelular, pero se requiere una segunda señal a través de las moléculas CD28, B7 (CD80/CD86) para que se produzca la activación linfocitaria. Si ésta no ocurre, se produce *anergia*. La molécula CTLA-4 origina anergia al unirse a B72 (CD86) y fomenta la tolerancia periférica.

Si en cambio se dan la señal y la co-sígnal, se produce la transducción de señales intracelulares con activación de los factores de transcripción, como el NF- κ B y otros que permiten la transcripción y síntesis de IL-2, luego la producción de INF- γ e IL-4 va a diferenciar a los Th en Th1 y Th2 respectivamente. Los linfocitos Th1 producen INF- γ , IL-2 y TNF- β , citocinas estimuladoras esencialmente de la respuesta celular, mientras que los Th2 producen IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 e IL-10. El INF- γ es inhibidor de Th2, mientras que IL-4 e IL-10 inhiben Th1. También se producen las Th reguladoras FoxP3 positivas y negativas, productoras de TGF β y existe una tercer población efectora la Th17 involucrada en la regulación de la tolerancia.

Las células infectadas por microorganismos intracelulares, especialmente virus o con transformaciones tumorales, pueden tener proteínas virales o tumorales en el citoplasma que, junto a proteínas propias, sufren proteólisis en un complejo multienzimático llamado proteosoma. El HLA de clase I sintetizado en el retículo endoplásmico se une por la tapasina a las moléculas TAP1 y TAP2 que les permite el desplazamiento hasta los péptidos y les facilita se unan al HLA para luego ser expresados en la membrana. Todo este proceso es estimulado por el INF- γ . Los linfocitos T citotóxicos reconocen a través del TCR el HLA clase I y el péptido, y se activan con la segunda señal como ocurre con los Th. Esto genera una señal de apoptosis que lleva a la célula blanco a la muerte. El proceso es más activo si se producen las citocinas a partir de los Th1, y citocinas de los macrófagos estimuladoras de Th1, como la IL-12 e IL-18 por ejemplo.

Los linfocitos B pueden unir Ag de tipo polisacáridicos y activarse para producir IgM, pero en más del 90% de los casos endocitan Ag proteicos, que son procesados y presentados con restricción HLA clase II a los linfocitos Th. La producción de citocinas estimula el cambio de isotipo de las Ig. Además de las moléculas de adhesión y las de co-sígnal, es necesaria la unión de las moléculas CD40 y CD40 ligando.

Frente a los Ag proteicos podemos distinguir una respuesta primaria que se produce ante la primera entrada del Ag, caracterizada por tardar más tiempo en producirse, con predominio de IgM y baja concentración de IgG, y una respuesta secundaria ante los siguientes desafíos con el mismo Ag que llevan a la maduración de la afinidad por la producción de hipermutaciones somáticas en las regiones hipervariables. Se caracteriza por ser más rápida, debido a los linfocitos de memoria, más duradera, con mayor concentración de IgG de alta afinidad; por lo tanto, más eficaz.

Resumiendo: la **inmunidad específica o adaptativa** involucra los mecanismos de reconocimiento, activación y respuesta del sistema inmune con células (linfocitos T) y proteínas (anticuerpos) específicas frente a una sustancia extraña denominada *antígeno (Ag)*. Se basa en la *selección clonal del repertorio de linfocitos T y B*, y se caracteriza por la *amplia diversidad, especificidad, especialidad, regulación y memoria*.

Preguntas de revisión

1. ¿En cuál de los estadios de maduración de las células B comienza el reordenamiento de la región variable de la cadena pesada de Ig?
2. ¿Cuál de las inmunoglobulinas es efectora de la inmunidad humoral en mucosas?
3. ¿Qué entiende por maduración de la afinidad?
4. ¿Qué molécula de adhesión es inhibidora de la señal de coestimulación entre la CPA y el linfocito T?

Problema 15-1

Un niño de 4 años de edad es internado por presentar neumonía por estafilococo. Tiene como antecedentes familiares un tío fallecido a la edad de 6 años por un proceso infeccioso. La madre refiere que el niño ha sido tratado repetidamente con antibióticos por distintos procesos infecciosos: rinosinusitis, otitis, bronquitis, episodios diarreicos. Sus procesos aumentaron en frecuencia al iniciar la actividad en el jardín de infantes. Al examen físico no presenta adenopatías y las fauces están libres, no observándose las amígdalas, a pesar de no haber sido operado y manifestar angina. Datos de laboratorio de interés: dosaje de Ig: IgG 50 mg/dL, IgM e IgA no detectable. Hemograma normal. Recuento de linfocitos: CD3 85%, CD4 55%, CD8 28%, CD19 no detectable. Es tratado con antibióticos y gammaglobulina endovenosa y evoluciona favorablemente, dado de alta a los 10 días.

Diagnóstico presuntivo: Agammaglobulina ligada al cromosoma X

La madre es portadora del defecto (en Xq22) y probablemente su hermano ha padecido la enfermedad, como la sufre el hijo.

Se trata de una mutación en el gen que codifica para tirosincinasa (Atk o Btk).

Preguntas:

1. ¿Qué consecuencia trae la mutación de Btk?
2. ¿Es importante el antecedente familiar?
3. ¿Cuál sería el tratamiento de elección?
4. ¿Qué significado tienen los CD19 y por qué no son detectables?

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas AK, Lichtman AH. *Inmunología celular y molecular*. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2004 (5ª ed. en inglés Cellular and molecular immunology).
- Abbas AK. The control of T cell activation vs. tolerance. *Autoimmun Rev*, 2003; 2(3):115-8.
- Anderson AL, Sporic R, Lambris J, Larosa D, Levinson AL. Pathogenesis of B-cell superantigen-induced immune complex-mediated inflammation. *Infect Immun*, 2006; 74(2):1196-203.
- Beetz S, Marischen L, Kabelitz D, Wesch D. Human gamma delta T cells: candidates for the development of immunotherapeutic strategies. *Immunol Res*, 2007; 37(2):97-111.
- Chandok MR, Okoye FI, Ndejemi MP, Farber DL. A biochemical signature for rapid recall of memory CD4 T cells. *J Immunol*, 2007; 179(6):3689-98.
- Cook GP and Tomlinson IM. The human immunoglobulin V_H repertoire. *Immunol today*, 1995; 16:237-42.
- De la Salle H, Mariotti S, Angenieux C, et al. Assistance of microbial glycolipid antigen processing by CD1e. *Science*, 2005; 310(5752):1321-4.
- Eiguchi K, Llorente de Carlín C. *Histocompatibilidad*. Arch Arg de Alergia e Inmunol Clin, 1998; 29(2):7-18
- Fainboim L, Geffner J. *Introducción a la inmunología humana*. 5ª ed. Buenos Aires: Panamericana, 2005.
- Gatzka M, Walsh CM. Apoptotic signal transduction and T cell tolerance. *Autoimmunity*, 2007; 40(6):442-52.
- Goldsby RA, Kindt JT, Osborne BA. *Kuby immunology*. 5ª ed. New York: WH. Freeman and Company, 2003.
- Harrington LE, Mangan PR, Weaver CT. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol*, 2007; 25:821-52.
- Kadowaki N. Dendritic cells-a conductor of T cell differentiation. *Allergol Int*, 2007; 56(3):193-9.
- Lechler R, Warrens A. *HLA in Health and Disease*. 2ª ed. San Diego: Academic Press, 2000.
- Levy S, Todd SC, Maecker HT. CD81 (TAPA-1): a molecule involved in signal transduction and cell adhesion in the immune system. *Annu Rev Immunol*, 1998; 16:89-109.
- Milstein C. The hybridoma revolution: an offshoot of basic research. *Bioessays*, 1999; 1(11):966-73.
- Oberle N, Eberhardt N, Falk CS, Krammer PH, Suri-Payer E. Rapid suppression of cytokine transcription in human CD4+CD25 T cells by CD4+Foxp3+ Regulatory T cells: independence of IL-2 consumption, TGF-beta, and various inhibitors of TCR Signaling. *J Immunol*, 2007; 179(6):3578-87.
- Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin 18 and periodontal disease. *J Dent Res*, 2007; 86(7):586-93.
- Perkins DL, Berriz G, Wang YS, Smith JA, Geffer ML. Comparison of class I- and II-restricted T cell recognition of the identical peptide. *Eur J Immunol*, 1991; 21(11):2781-9.
- Reth M. The B-cell antigen receptor complex and co-receptor. *Immunol Today*. 1995; 16:310-313.
- Schumann J, De Libero G. Serum lipoproteins: Trojan horses of the immune response? *Trends Immunol*, 2006; 27(2):57-9.
- Selvaraj RK, Geiger TL. A kinetic and dynamic analysis of Foxp3 induced in T cells by TGF-beta. *J Immunol*, 2007; 179(2):11-1390.
- Shinners NP, Carlesso G, Castro I et al. Bruton's Tyrosine Kinase mediates NF- κ B activation and B cell survival by B cell-activating factor receptor of the TNF-R family. *J Immunol*, 2007; 179(6):3872-80.
- Tonegawa S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature*, 1983; 302: 575-81.
- Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrili M, Murphy KM. Th17: An effector CD4 T cell lineage with regulatory T cells ties. *Immunity*, 2006; 24:677-688.

RESPUESTA INMUNE ALTERADA

Kumiko Eiguchi

Contenidos

Inmunodeficiencias. Inmunodeficiencias primarias. Alergia e hipersensibilidad. Hipersensibilidad tipo I. Hipersensibilidad tipo II. Hipersensibilidad tipo III. Hipersensibilidad tipo IV. Autoinmunidad.

Objetivos

- Introducir al lector en los conceptos de la inmunidad alterada.
- Enumerar los distintos aspectos generales y fisiopatogénicos de las inmunodeficiencias primarias y secundarias y de los mecanismos de hipersensibilidad.
- Aplicar dichos conocimientos en un problema concreto o caso clínico.

INTRODUCCIÓN

De un modo general pueden analizarse dos grandes aspectos en la respuesta alterada. Por un lado, la falta o disminución de la respuesta que dan origen a las **inmunodeficiencias primarias y secundarias** y, por otra parte, la respuesta exagerada o aberrante, denominada al principio como **alergia** y luego como **hipersensibilidad**, que comprende una amplia gama de enfermedades cuyo resultado común es el daño al organismo, ya sea por autoagresión inmunológica o **autoinmunidad**, o por mecanismos de hiperrespuesta o respuesta exacerbada, distinta a la normal, como ocurre en la **atopia**.

En el presente capítulo se resumirán los conceptos fisiopatogénicos de esos dos grandes tópicos.

INMUNODEFICIENCIAS

Las inmunodeficiencias se presentan por defecto de uno o varios componentes del sistema inmune o alteración en la respuesta inmunológica, lo que origina, como manifestación común, mayor susceptibilidad a infecciones, que suelen ser recurrentes, severas, que requieren antibióticos en forma frecuente o por vía intravenosa, con evolución tórpida, con varias hospitalizaciones y que pueden ser originadas por gérmenes habitualmente no patógenos u oportunistas. Por la mayor frecuencia de exposición a patógenos, las infecciones más frecuentes suelen ser respiratorias, orales, intestinales o de piel.

Cuando se afecta la inmunidad celular, el tipo de infecciones es generalmente por gérmenes de tipo intracelulares, como virus, parásitos unicelulares, micobacterias, hongos, entre otros, mientras que en el caso de infecciones recurrentes por gérmenes piógenos debe pensarse en defecto de la inmunidad humoral o de la fagocitosis, y en orden de frecuencia, en deficiencias de anticuerpos, de la fagocitosis o del sistema del complemento.

Las inmunodeficiencias primarias o congénitas se deben a defectos genéticos que pueden involucrar a cualquiera de los componentes del sistema inmune normal; por ello ha sido difícil su clasificación. Se manifiestan por infecciones especialmente en la lactancia y en la infancia, aunque algunas formas pueden manifestarse en el adulto. Si bien las formas graves son raras, la frecuencia estimada de inmunodeficiencia por defecto de algún componente del sistema inmune se considera de 1 en 500 personas.

Las inmunodeficiencias secundarias se producen por distintos factores que alteran el sistema inmune o la respuesta inmune. Se manifiestan por procesos infecciosos similares a la inmunodeficiencia primaria. En algunos casos, corregido el problema de base, se recupera la respuesta inmunológica.

Los factores más frecuentes y de importancia que pueden contribuir a la falla en la respuesta son: las infecciones virales, por ejemplo la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) que al atacar especialmente al linfocito T CD4⁺, como a distintas CPA, a través de la molé-

Cuadro 16-1. Criterios orientadores para inmunodeficiencias primarias

Diagnóstico de inmunodeficiencias primarias (Jeffrey Modell Foundation)

1. Ocho o más infecciones nuevas en el año.
2. Dos o más infecciones sinusales severas en el año.
3. Dos o más meses de tratamiento antibiótico (ATB) en el año.
4. Dos o más neumonías en el año.
5. Falla en la ganancia ponderal normal.
6. Úlceras o lesiones de piel o abscesos recurrentes.
7. Aftas o micosis en piel en forma persistente después del año de vida.
8. Necesidad de la administración de ATB por vía intravenosa.
9. Dos o más infecciones severas.
10. Antecedentes familiares o historia familiar de inmunodeficiencia primaria.

cula CD4 y de los receptores de quimiocinas, como CXCR4 y CCR5, lleva a la devastación del sistema inmune al punto de generar distintos estadios de la enfermedad conocida como síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Pero anterior a la irrupción del HIV, ya se conocía la inmunodeficiencia producida por el sarampión, el virus Epstein-Barr y otros virus. Otros factores son la desnutrición, los tratamientos inmunosupresores, el cáncer diseminado o trastornos metabólicos, como la diabetes e incluso algunas enfermedades autoinmunes.

Inmunodeficiencias primarias

Son enfermedades genéticas que se heredan en forma autosómica recesiva o ligadas al cromosoma X. Pueden producirse por defectos madurativos, déficit enzimáticos, alteraciones en los distintos niveles de la respuesta inmune y su regulación o déficit, o alteraciones de algunos de los componentes del sistema inmune. Las manifestaciones más comunes son las infecciones recurrentes durante la lactancia o en la infancia. Si las infecciones se manifiestan desde los primeros meses del nacimiento y antes de los seis meses debe pensarse en una falla severa del sector T o descartar una forma severa combinada. Si la misma es posterior a los seis meses y predominan los gérmenes piógenos hay que pensar en la deficiencia transitoria de anticuerpos por descenso de los anticuerpos maternos y retraso en la producción de IgG del lactante. La Fundación Jeffrey Modell, con distintos grupos de estudio, ha dado una serie de criterios diagnósticos con el objetivo de realizar la consulta temprana (cuadro 16-1).

Fenotípicamente se las ha clasificado por su fase efectora en:

1. Inmunodeficiencias combinadas T y B.
2. Deficiencias predominantes de anticuerpos.
3. Deficiencias celulares y de anticuerpos asociadas con otros defectos mayores.
4. Inmunodeficiencias asociadas con defectos de fagocitosis.
5. Defectos del sistema fagocítico.
6. Defectos congénitos del sistema de complemento.

De éstas, la forma predominante es la deficiencia de anticuerpos entre el 53 a 65% según los diferentes autores. Entre las deficiencias de anticuerpos, la deficiencia de IgA es la más frecuente. Le siguen en frecuencia las deficiencias combinadas T y B (10 al 15%), la deficiencia de la fagocitosis (9 al 10%) y la deficiencia del complemento (3 al 5%). Se dan con mayor frecuencia en los varones con una relación 2:1 y puede aumentar en los casos severos, debido a las inmunodeficiencias ligadas al cromosoma X como la agammaglobulinemia ligada al sexo, la inmunodeficiencia combinada severa ligada al sexo, el síndrome de Wisnott-Aldrich, el síndrome de hiper IgM ligado al sexo, el síndrome linfoproliferativo ligado al sexo, la Enfermedad granulomatosa crónica ligada al sexo y la deficiencia de properdina, entre otras.

En la figura 16-1 se señalan los frenos madurativos que causan inmunodeficiencias primarias, especialmente del tipo de la inmunodeficiencias combinadas T y B.

Síndrome de Di George o CATCH 22

Es causado por una delección en el brazo largo del cromosoma 22 (22q11) que afecta a varios genes. Se caracteriza por un defecto en la embriogénesis de los arcos faríngeos que provoca hipoplasia o aplasia tímica y paratiroides (3^{er} y 4^{to} arcos), cardiopatías congénitas (6^{to} arco) y anomalías faciales, como micrognatia, hipertelorismo, implantación baja de los pabellones auriculares (1^{er} y 2^{do} arcos). Puede manifestarse como un síndrome de Di George total o parcial. En el primero se presentan las manifestaciones de inmunodeficiencia celular con linfocitos CD4⁺ disminuidos y disminución de las pruebas funcionales celulares. Los pacientes presentan infecciones por microorganismos intracelulares. Pueden mejorar con la edad, probablemente por funcionamiento de tejido extratímico o escaso tejido tímico funcionante. El tratamiento es el trasplante histoiéntico de médula ósea o de timo.

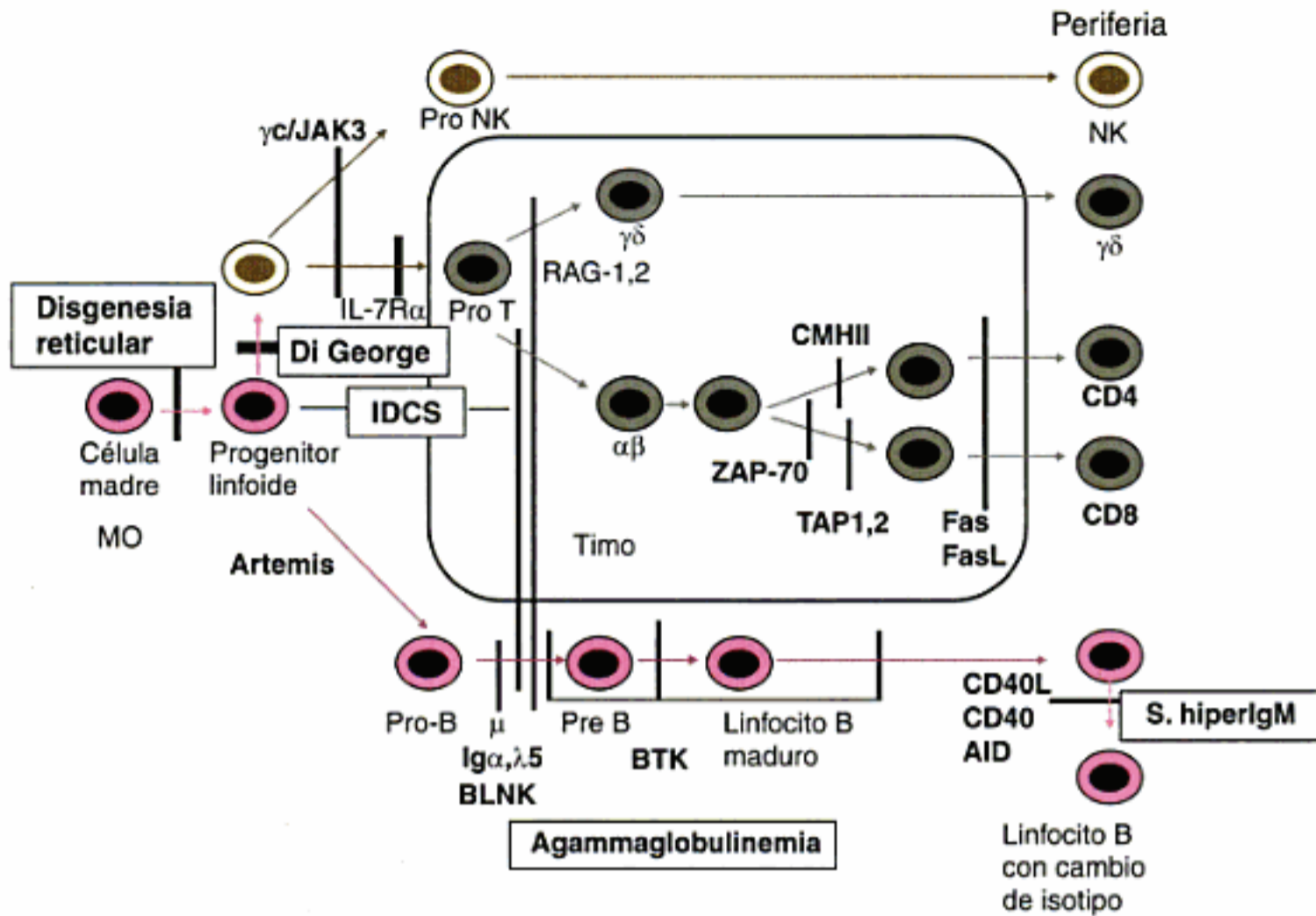


Fig. 16-1. Inmunodeficiencias. Defectos genéticos en la maduración linfocitaria. Se señalan los sitios de frenos por diferentes defectos que originan inmunodeficiencias con rayas de trazo grueso y en recuadro se señalan algunos síndromes. Los defectos señalados originan deficiencias combinadas T y B, como la IDCS: inmunodeficiencia combinada severa, con excepción del síndrome Di George y la agammaglobulinemia.

Agammaglobulinemia ligada al cromosoma X o enfermedad de Bruton

Es causada por mutaciones o delección del gen que codifica la enzima tirosincinasa de linfocitos B (Btk) que forma parte de la vía de señalización del receptor de linfocitos pre-B, necesaria para la maduración de los linfocitos B. La maduración se frena en los pre-B y, por lo tanto, no hay linfocitos maduros para poblar los órganos linfoides secundarios, ni producción de Ig, que estarán ausentes o en muy baja concentración a nivel sérico. La maduración y la actividad de linfocitos T es normal y un 20% de estos pacientes presentan trastornos autoinmunitarios. La mayoría es ligada al cromosoma X, pero existe un grupo menor que se hereda en forma autosómica recesiva. El tratamiento es sustitutivo. Se indica IgG intravenosa en forma semanal o mensual, según la gravedad del caso.

Inmunodeficiencia combinada severa (IDCS)

Son formas severas de inmunodeficiencias que se presentan en los primeros meses de vida y que

deben ser rápidamente diagnosticadas y tratadas, pues llevan tempranamente a la muerte.

Comprenden distintos síndromes ligados al cromosoma X o autosómicos recesivos y presentan linfopenia T, agammaglobulinemia, y ausencia de funcionalidad de las respuestas celular y humoral. Alrededor del 50% de los casos corresponden a defectos de la cadena gamma común (γC) de los receptores de la superfamilia de IL-2 que comprende los receptores para IL-2, IL-15, IL-7, IL-9, IL-4 e IL-21.

La falta de señal para IL-7 es crítica para la maduración de linfocitos T e interviene también en la maduración de linfocitos B. Sin embargo, afecta a los timocitos, ya que los niños con mutación de la cadena γC tienen escaso o nulo desarrollo tímico, mientras que los linfocitos B se encuentran en cantidades normales, pero funcionalmente no pueden sintetizar las distintas Ig.

Clínicamente se manifiestan con infecciones en los primeros meses de vida, especialmente candidiasis, dermatitis exantemática, infecciones respiratorias, diseminación hematogena de agentes vacunales, como el bacilo Calmette-Guérin (BCG), y en algunos casos pueden hacer una enfermedad

injerto versus huésped materno-fetal, donde las células inmunocompetentes de la madre transferidas al niño al momento de nacer pueden reaccionar contra las células del hijo que presentan HLA diferentes (los HLA paternos).

La cadena γ_c tiene asociada una tirosin kinasa conocida como Jak3. La mutación del gen Jak3 da origen a una IDCS similar a la de mutaciones de la cadena γ_c .

El tratamiento es el trasplante de médula ósea y la terapia génica.

Inmunodeficiencia selectiva de IgA

La deficiencia de IgA es la más frecuente de las inmunodeficiencias de anticuerpos. Su incidencia es de 1 de cada 600 individuos de origen europeo y un gran porcentaje de los sujetos es asintomático, debido a los aumentos compensatorios de las IgG e IgM secretadas. Se considera inmunodeficiencia selectiva de IgA cuando la concentración de esta inmunoglobulina en niños mayores de 2

años es de 5 mg/dL, con valores no alterados de las otras Ig.

La IgA está ausente en el recién nacido y es la última en aparecer; va aumentando progresivamente hasta alcanzar su máxima concentración alrededor de los 8 años de vida. En los lactantes, la IgA secretoria es transferida pasivamente por la leche materna. La función principal es la de limitar el ingreso de antígenos alimenticios, bacterianos y virales a través de las mucosas (intestinal, respiratoria, etc.).

La mayor parte de la IgA sérica es monomérica (7S) y predomina el subtipo IgA1, mientras que en las secreciones predomina la forma dimérica con el subtipo IgA2, con la particularidad de poseer un componente secretor.

Los pacientes con deficiencia de IgA con frecuencia producen autoanticuerpos. Algunos de ellos, cuando reciben transfusiones de sangre o de hemoderivados pueden desarrollar niveles significativos de anticuerpos frente a la IgA y sufrir reacciones anafilácticas graves, por lo que se con-

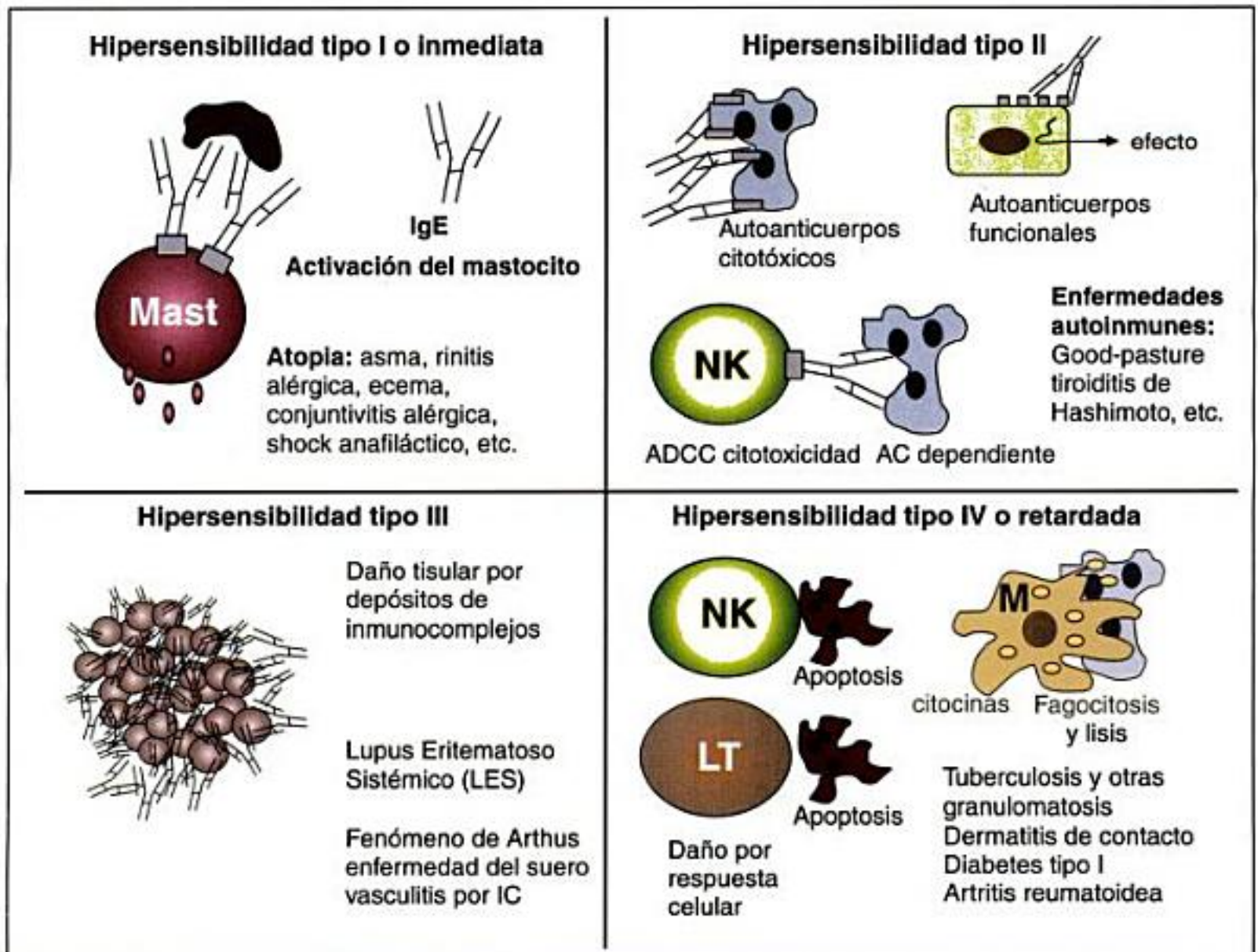


Fig. 16-2. Tipos de hipersensibilidad según la clásica clasificación de Gell y Coombs, en función de los mecanismos predominantes de daño tisular. Mast: mastocito, M: macrófagos, LT: linfocitos T citotóxicos, NK: células naturales asesinas.

Cuadro 16-2. Estudios de la respuesta adaptativa humoral y celular en el nivel 1.

Estudio de la respuesta inmune humoral. Nivel 1

- Dosaje de los niveles séricos de IgG, IgM, IgA e IgE.
- Recuento de linfocitos B por citometría de flujo: CD19, CD20.
- Valoración de anticuerpos preexistentes por infecciones o vacunaciones previas: antitetánicos e isohemaglutininas anti-A y anti-B.

Estudio de la respuesta inmune celular. Nivel 1

- Recuento de linfocitos a través de un hemograma con recuento y fórmula.
- Recuento de subpoblaciones linfocitarias T por citometría de flujo: CD3, CD4, CD8.
- Pruebas de hipersensibilidad retardada a distintos Ag conocidos, como PPD, candidina, tricofitina, estreptocinasa, estreptodornasa.

trainsica el tratamiento sustitutivo. En caso de infecciones frecuentes puede reforzarse la actividad de anticuerpos con IgG intravenosa, cuyo preparación, además de cumplir con las normas de bioseguridad, debe cumplir con la depleción de IgA.

No ha podido establecerse el patrón genético de la enfermedad. Puede manifestarse a cualquier edad y las manifestaciones clínicas son muy variadas. Las más comunes son infecciones recidivantes de vías respiratorias y digestivas, diarreas por gérmenes encapsulados, como *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, entre los más frecuentes.

Muchas veces se asocia a enfermedades alérgicas o a enfermedades autoinmunes, por ejemplo: síndrome de Sjögren. También puede asociarse a enfermedades malignas, como el adenocarcinoma de estómago o linfoma de células B.

Ciertas drogas antiepilépticas pueden ocasionar deficiencia de IgA, como la difenilhidantoína, sulfasalazina o valproato de sodio.

El tratamiento es sintomático con la elección del antibiótico adecuado. Puede indicarse profilaxis antibiótica o IgG intravenosa según el caso. Lo importante es no indicar IgA.

Diagnóstico de las inmunodeficiencias primarias

Si el paciente reúne los criterios clínicos mencionados anteriormente, el auxilio del laboratorio inmunológico es esencial y tiene como objetivo explorar, de acuerdo con el cuadro clínico, la respuesta inmune humoral, celular e innata (fagocitosis, células NK y complemento). Se estudian en dos niveles según su complejidad. En los cuadros

Cuadro 16-3. Estudios de la respuesta innata: fagocitos, complemento y células NK en el nivel 1

Estudio de la respuesta NK. Nivel 1

- Estudio de la población NK por citometría de flujo: CD16/56.
- Actividad NK.

Estudio de la respuesta de los fagocitos. Nivel 1

- Hemograma con recuento y fórmula para evaluar la cantidad de leucocitos.
- Estudio de la actividad lítica oxígeno-dependiente por las pruebas de nitroblue tetrazolio (NBT), prueba de oxidación de dihidrorodamina (DHR) o quimioluminiscencia.
- Expresión de las moléculas de adhesión por citometría de flujo: CD11, CD18, CD15.

Estudio de complemento. Nivel 1

- Dosaje de C3, C4 (en caso de sospechar angioedema hereditario agregar C1 inhibidor, C1q y C1 funcional).
- Actividad lítica del complemento: complemento hemolítico 50 (CH50) y vía alterna 50.

16-2 y 16-3 se muestra el nivel 1 de cada sector explorado. El nivel dos comprende estudios funcionales, moleculares y genéticos según el diagnóstico presuntivo.

ALERGIA E HIPERSENSIBILIDAD

El término "alergia", del griego *allos ergo*, reacción alterada, fue utilizado por primera vez por Von Pirquet en 1906, al sugerir que el fenómeno de anafilaxis (*ana*: sin, *filaxis*: protección) descrito por Charles Richet, ante la falta de respuesta protectora en una experiencia realizada, había sido una respuesta alterada, exagerada del sistema inmune. Era una respuesta de hipersensibilidad.

En 1922 Coca introduce el término de atopia (*a*: sin, *topo*: lugar) haciendo referencia al hecho de que en los pacientes con respuesta inmediata a preparaciones de alérgenos, además de ser distinta a la respuesta protectora, las manifestaciones clínicas ocurrían en diferentes localizaciones, sin importar la puerta de entrada, como en la piel (eccema), los bronquios (asma), la mucosa nasal (rinitis), la conjuntiva ocular (conjuntivitis), y podían ser transmitidas por el suero por la presencia de *reaginas*. Cuando el matrimonio Ishizaka descubre que las reaginas correspondían a la inmunoglobulina E, el término "atopia" queda reservado para los pacientes con hipersensibilidad mediada por IgE, cuya concentración sérica se encuentra elevada.

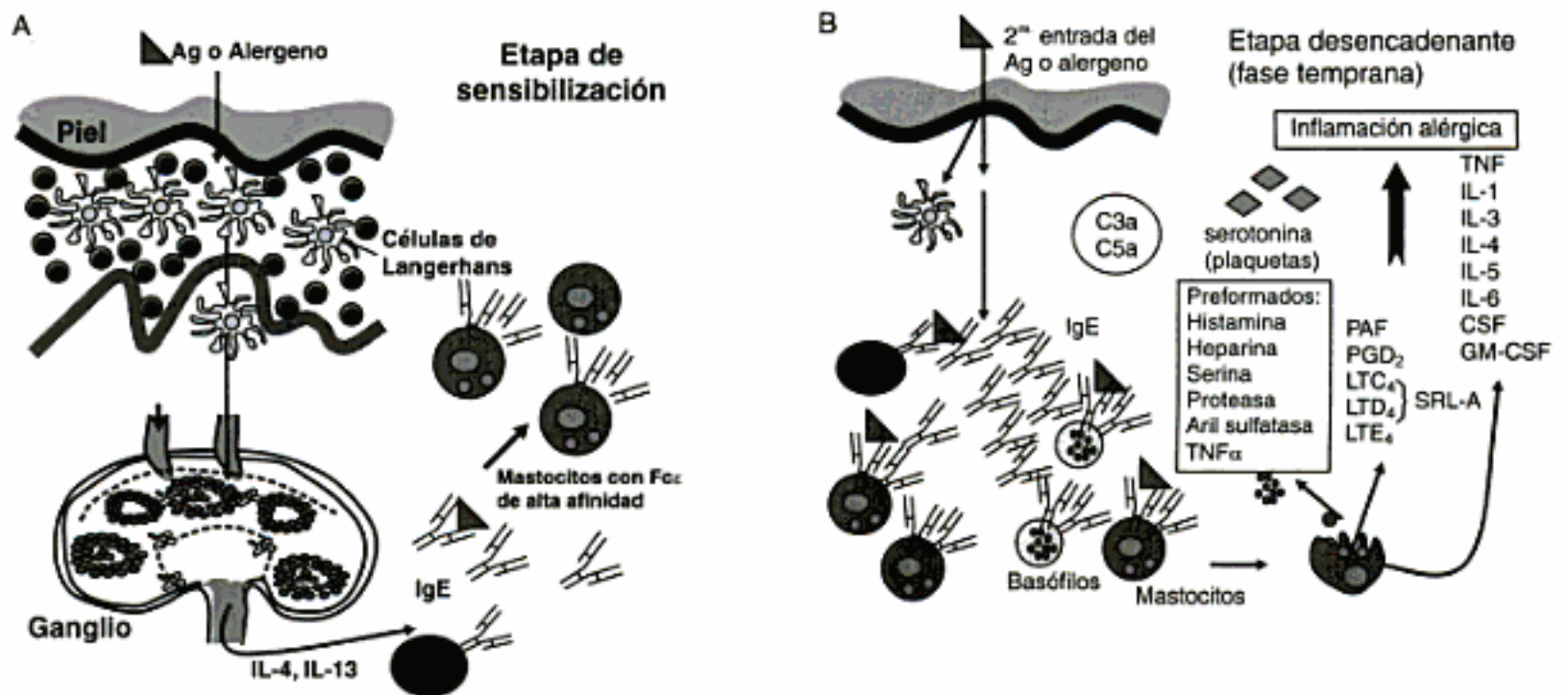


Fig. 16-3. Hipersensibilización tipo I. A) Etapa de sensibilización. El alérgeno es procesado y llevado por la célula dendrítica al ganglio regional, para ser presentado a los linfocitos Th que se diferencian en Th2, con producción de IL-4 e IL-13 que estimulan el cambio de isotipo a IgE. La IgE es liberada y se fija a los mastocitos. B) Etapa desencadenante. El reingreso del alérgeno provoca la respuesta de los linfocitos B_{IgE} de memoria y se une a la IgE específica fijada a los mastocitos y provoca su activación y degranulación con liberación de sustancias vasoactivas y mediadores lipídicos preformados.

En 1963, las respuestas inmunológicas alteradas se clasificaron según Gell y Coombs en cuatro tipos de hipersensibilidad o alergia: tipo I o anafiláctico-reagínico, tipo II o citotóxico, tipo III o por complejos inmunes y tipo IV o celular. En los últimos tres grupos figuran muchas enfermedades autoinmunes. Las enfermedades infecciosas pueden desencadenar o presentar fenómenos de hipersensibilidad (fig. 16-4). Esta sencilla clasificación, que puede seguir siendo útil como marco referencial, fue modificada con el agregado de dos grupos: tipo V, mediado por anticuerpos contra receptores y la de tipo VI o hipersensibilidad de la inmunidad natural, como el shock endotóxico, desencadenado por endotoxinas bacterianas.

Hipersensibilidad tipo I

Es la hipersensibilidad más común y es mediada por IgE. Juegan distintos factores genéticos y se han identificado numerosos genes asociados, ubicados en diferentes cromosomas. Especialmente se ha estudiado la genética del asma, considerada una enfermedad multifactorial y poligénica. Puede comenzar con manifestaciones en piel dando lugar al eccema o dermatitis atópica, o la inflamación de la mucosa nasal con la rinitis alérgica y pasar al asma bronquial, o el llamado mal asmático. También puede darse una forma sistémica grave con edema de glotis e hipotensión que es el conocido shock anafiláctico o anafilaxia, que puede ser

desencadenado por distintas sustancias, especialmente drogas o anestésicos.

Se caracteriza por una **primera etapa de sensibilización** en la que se produce una respuesta fundamentalmente Th2 con liberación de IL-4, IL-5, IL-13 e IL-9. La IL-4 e IL-13 favorecen la síntesis de anticuerpos IgE contra Ag conocidos como alérgenos (ácaros, pólenes, Ag alimentarios, toxinas o Ag de insectos, polvo, epitelio de animales domésticos, plumas, hongos anemófilos y Ag bacterianos entre los más comunes). La IL-5 activa a los eosinófilos; la IL-4 y la IL-9 activan y estimulan la proliferación de mastocitos; y la IL-13 estimula a las células epiteliales para una mayor secreción mucosa. La **IgE específica** producida por los linfocitos B en respuesta a los alérgenos pasa a la circulación y se **fija por su fracción Fc a los receptores Fc épsilon de alta afinidad (FcεRI), presentes en los mastocitos y los basófilos**. Existen dos tipos de mastocitos: 1) Los *mastocitos mucosos* que se ubican en la mucosa intestinal y en los espacios alveolares del pulmón; caracterizados por la presencia de triptasa y ausencia de otras proteasas neutras en los gránulos, y son linfocitos T dependientes. 2) Los *mastocitos del tejido conjuntivo* ubicados en el pulmón, submucosa intestinal y en la piel poseen heparina, histamina en gran cantidad y proteasas neutras (triptasa, quimasa, carboxipeptidasa, proteasa similar a la catepsina G) en sus gránulos, y no son linfocitos T dependientes.

Ante las subsecuentes entradas del Ag se produce la **segunda etapa o etapa desencadenante**. Los alérgenos se unen al paratope o zona Fab de la IgE fijada y se desencadena una señal intracelular por entrecruzamiento de moléculas de los FcεRI que disparan una cascada de señalización con activación de tirosincinasas, la vía de las MAP kinasas, de fosfolipasa C (PLC) con aumento de inosin trifosfato (IP₃) mediador del Ca²⁺ intracelular y activación de proteincinasa C (PKC), utilización de ATP/GTP con aumento del metabolismo del mastocito y degranulación con liberación de las sustancias vasoactivas, como la **histamina**, el factor de activación plaquetario (PAF) que estimula la liberación de serotonina por parte de las plaquetas, enzimas y mediadores lipídicos, como los **leucotrienos** y prostaglandina D₂ (PGD₂). Esta respuesta inmediata se da en la **fase temprana** de la etapa desencadenante, caracterizada por vasodilatación, congestión y edema, a los pocos minutos de la exposición al alérgeno al que el paciente está sensibilizado (fig. 16-3).

Además de la liberación de las sustancias preformadas y de mediadores lipídicos de rápida síntesis, se produce la síntesis de citocinas, como TNF, IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, CSF, GM-CSF, MIP-1α, MIP-1β. Estas citocinas proinflamatorias favorecen el proceso inflamatorio alérgico. La IL-5, así como la fracción C5a y C3a del complemento, atraen y activan a los eosinófilos, característicos de la **fase tardía**, que se da entre las dos y las veinticuatro horas siguientes de la exposición al

alérgeno, con previa sensibilización. C5a atrae neutrófilos y también hay linfocitos. Los eosinófilos se unen a las células endoteliales a través de la selectina E y la integrina VLA-4, que permiten el pasaje de éstos a los tejidos. También actúan como quimioattractantes la eotaxina, la proteína quimioatáctica de monocitos-5, el PAF y LTB₄.

Los eosinófilos poseen receptores para la fracción Fc de IgG, IgA e IgE, a través de los cuales pueden hacer ADCC, contra las moléculas de IgE e IgA unidas a parásitos del tipo de los helmintos y liberan el contenido de sus gránulos que lesionan tanto al parásito como a células normales vecinas. Entre las sustancias tóxicas liberadas se encuentran la **proteína básica mayor**, la **proteína catiónica de los eosinófilos** y la **peroxidasa eosinófila**. Los eosinófilos activados liberan también **PAF** y **leucotrienos** del tipo LTC₄, LTD₄, LTE₄ y algunas citocinas (fig. 16-4).

Para el diagnóstico de la hipersensibilidad tipo I o atopia, se utilizan técnicas *in vitro*, como el dosaje de la IgE total sérica y la IgE específica por enzimoimmunoensayo (ELISA) o radioimmunoensayo (RIA), o *in vivo* a través de pruebas cutáneas en la que se inyectan en la piel del brazo los probables alérgenos a los cuales el paciente está sensibilizado, en concentraciones conocidas que no provoquen anafilaxia, y se leen en forma inmediata y a los 30 minutos con un control negativo de solución fisiológica y uno positivo de histamina.

El tratamiento está dirigido a contrarrestar la parte efectora con antihistamínicos, antileucotrie-

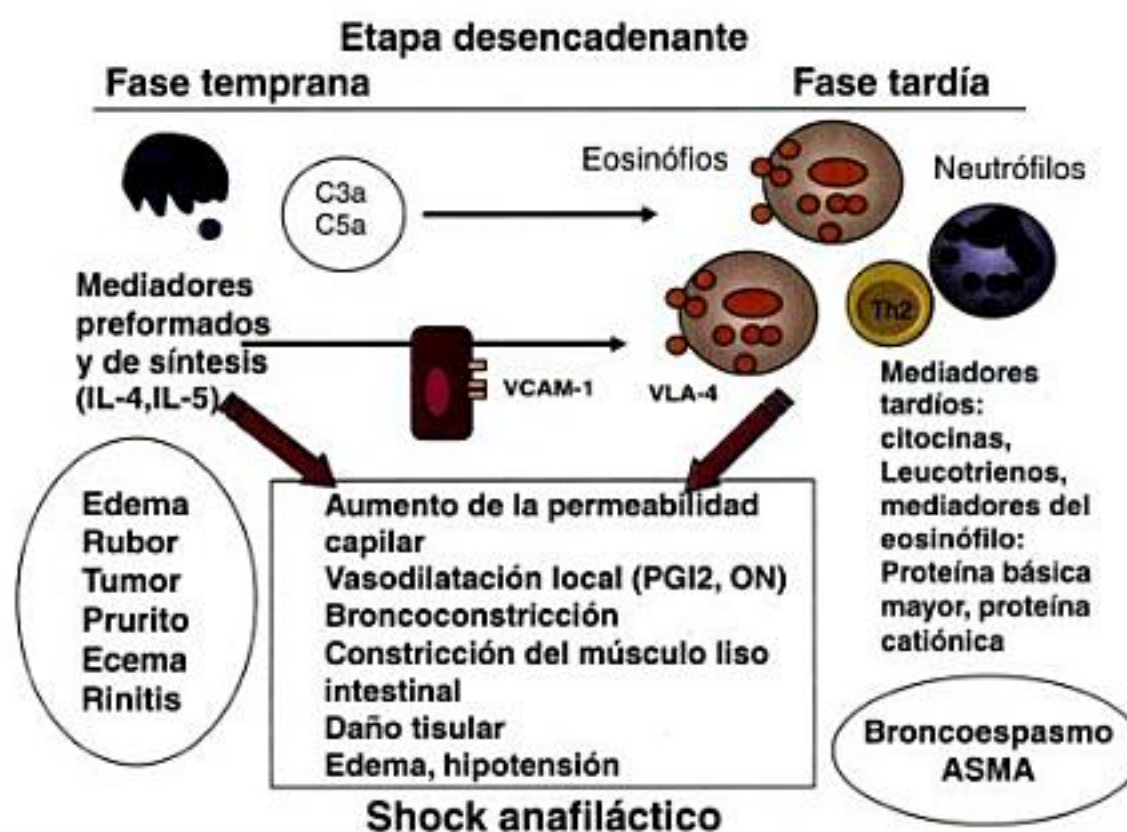


Fig. 16-4. Etapa desencadenante de la hipersensibilidad tipo I con sus fases temprana y tardía. PGI₂: prostaglandina I₂, ON: óxido nítrico.

nos, moduladores del calcio, corticoides o broncodilatadores según el caso y a través de una terapia desensibilizante con la administración por vía subcutánea o sublingual de los alérgenos a los cuales está sensibilizado en dosis crecientes, en intervalos regulares, para conseguir la tolerancia y, por ende, la inhibición de la síntesis de la IgE específica con aumento de IgG4 bloqueadora de los alérgenos.

Hipersensibilidad tipo II

Es mediada por anticuerpos IgG o IgM que se unen a Ag celulares o tisulares propios o con antigenicidad cruzada con Ag microbianos. Pueden actuar por: a) lisis celular mediada por Ac fijadores de complemento, b) fagocitosis de células opsonizadas con Ac y complemento, y c) citotoxicidad mediada por Ac (ADCC). También se forman: d) Ac contra receptores de glándulas endocrinas que pueden actuar estimulando o inhibiendo la señal intracelular. A este último grupo que originan enfermedades endocrinológicas por hiper o hipofunción se las agrupa en la *hipersensibilidad tipo V*, según la clasificación modificada de Gell y Coombs.

Como ejemplo de enfermedades por hipersensibilidad tipo II, se encuentran la mayoría de las enfermedades autoinmunes organoespecíficas, donde pueden identificarse el o los Ac específicos contra Ag de un órgano determinado, como causante de la enfermedad, que puede ser transmitida por el suero. Ejemplo de alguna de ellas son el síndrome de Goodpasture con Ac contra las membranas basales pulmonares y glomerulares, la anemia megaloblástica autoinmune con Ac contra el factor de Castle necesario para la absorción de vitamina B12 o Ac contra las células parietales del estómago, la miastenia gravis con Ac contra los receptores de acetilcolina, la glomerulonefritis autoinmune, la enfermedad de Graves Basedow, donde los Ac simulan la acción de la hormona tiroestimulante (TSH), la tiroiditis de Hashimoto con Ac contra la glándula tiroidea, especialmente antiperoxidasa tiroidea (anti-TPO) o antitiroglobulina, anemias hemolíticas autoinmunes y púrpura trombocitopénica autoinmune.

Un caso especial es el que se produce en la eritroblastosis fetal, donde la madre RH negativa puede sensibilizarse con eritrocitos RH positivos del hijo en el primer embarazo y generar Ac anti RH. Ante el segundo embarazo, los Ac IgG anti RH atraviesan la placenta y se fijan a las membranas eritrocitarias de los glóbulos rojos del feto, que quedan opsonizados y son fagocitados, provocando anemia hemolítica. Por otra parte, el contacto por segunda vez con el Ag RH provoca una res-

puesta secundaria, con mayor producción de Ac maternos. La presencia de estos anticuerpos puede estudiarse con la *reacción de Coombs*, directa en el caso de evidenciar los Ac fijados en los eritrocitos o indirecta si se buscan los Ac maternos.

Hipersensibilidad tipo III

Es la mediada por inmunocomplejos de IgG o IgM especialmente. Pueden estar formados por Ag propios como por Ag extraños. Normalmente se forman inmunocomplejos que son eliminados por fagocitosis, pero cuando se forman en exceso, no pueden eliminarse y se depositan en los tejidos o en los vasos, especialmente los de menor tamaño que no pueden fagocitarse. Por sus cargas, los que poseen Ag catiónicos tienen gran avidéz por las membranas basales de los vasos sanguíneos. Esto provoca inflamación, activación del complemento, con atracción de los neutrófilos que provocan daño vascular y de los tejidos adyacentes. Como el depósito puede realizarse en cualquier zona del organismo, genera enfermedades sistémicas, como el *lupus eritematoso sistémico* (LES) o como la *enfermedad del suero* descrita por Von Pirquet en 1911 caracterizada por fiebre, artritis, rash cutáneo o exantema, posterior al tratamiento de la difteria con suero de caballo inmunizado con el toxoide diftérico.

Las zonas más afectadas son los capilares de los glomérulos renales y las membranas sinoviales, por lo que las manifestaciones clínicas más comunes son vasculitis, glomerulonefritis y artritis.

La expresión experimental de este tipo de hipersensibilidad es el *fenómeno de Arthus*, que se produce al inyectar por vía subcutánea en un animal el Ag con el cual fue inmunizado anteriormente o por la inyección por vía intravenosa del Ac específico contra dicho Ag. En ambos casos se forman inmunocomplejos que se depositan en los vasos del lugar de la inyección y dan lugar a una vasculitis cutánea local con necrosis.

La enfermedad paradigmática es el LES en que se forman distintos tipos de anticuerpos; los más frecuentes son los antinúcleos, anti DNA, antiribonucleoproteínas, antifosfolípidos y otros que forman inmunocomplejos y se depositan a nivel de los vasos y tejidos, ocasionan manifestaciones clínicas proteiformes, anemia, erupción malar, rash discoide, fotosensibilidad, úlceras orales, poliserositis, neumonitis, nefritis, trastornos del sistema nervioso central, artritis, anemia hemolítica, leucopenia, plaquetopenia por autoanticuerpos, trastornos del laboratorio inmunológico con presencia de VDRL falsa positiva (una prueba para el diagnóstico de sífilis que utiliza un Ag que contiene cardio-

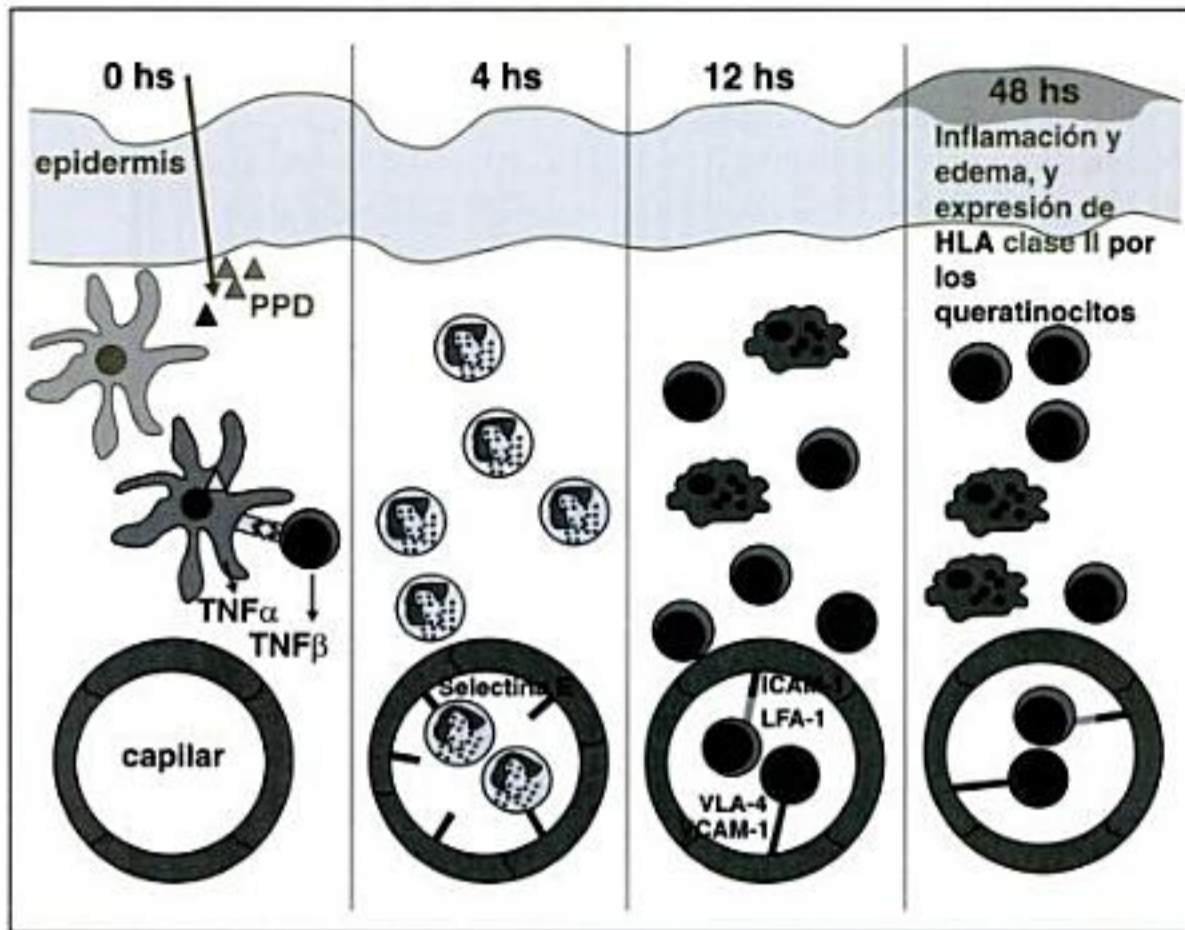


Fig. 16-5. Hipersensibilidad tipo IV. Reacción de hipersensibilidad retardada tipo tuberculínico, con infiltrado linfocitario y de macrófagos en el sitio de inyección de la PPD, a las 48 a 72 hs.

lipina), autoanticuerpos como los mencionados y otros. La Academia Americana de Reumatología agrupó estas manifestaciones en once criterios y se requieren cuatro de ellos para el diagnóstico.

Hipersensibilidad tipo IV

Es la respuesta exagerada de tipo celular. Los linfocitos T producen lesiones por hipersensibilidad retardada como por citotoxicidad contra células blanco del propio organismo.

A diferencia de la respuesta de hipersensibilidad inmediata, en la retardada, al inyectar el Ag en forma intradérmica, en un individuo sensibilizado a éste, se obtiene una respuesta en el sitio de inyección a las 48 a 72 hs. Se caracteriza por una infiltración rica en linfocitos y macrófagos.

Este tipo de respuesta puede dar lugar a inflamaciones crónicas que llevan a la formación de granulomas o reacción inflamatoria crónica en la que intervienen citocinas, especialmente de la subpoblación linfocitaria Th1.

Las lesiones titulares mediadas por células pueden ser transferidas por células, pero no por anticuerpos y pueden ser:

a) **de tipo tuberculínico** (48 a 72 hs). Es la clásica reacción de Mantoux, donde la inyección de Ag derivado del cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* en la cara anterior del antebrazo en un suje-

to previamente infectado o vacunado por BCG (bacilo Calmette-Guerin) en un período reciente (aproximadamente 5 años) provoca una reacción celular. El Ag es captado por las células dendríticas y presentado a linfocitos del sistema linfocitario de la piel (fig. 16-5). Se produce liberación de $INF\gamma$ y citocinas proinflamatorias, aumenta la expresión de moléculas de adhesión en los vasos de la zona, con afluencia de fagocitos polimorfonucleares en las primeras horas, y luego linfocitos y macrófagos, dando lugar a una induración que se ve, se palpa y puede medirse. La positividad de esta reacción nos indica que hay respuesta celular y que el paciente ha tenido contacto con el Ag, ya sea por ser vacunado recientemente (memoria inmunológica) o por estar infectado. En este último caso para considerarlo positivo (que indique infección) debe usarse un Ag estandarizado, como la PPD 2UT (derivado proteico purificado de *Mycobacterium tuberculosis* cepa RT23), y su lectura debe ser mayor a 10 mm en sujetos inmunocompetentes y mayor de 5 mm en pacientes inmunodeprimidos (véase cap. 23-4).

b) **por contacto** (48 a 72 hs). En este caso, distintas sustancias en contacto con la piel pueden provocar una dermatitis de contacto en sujetos predispuestos. Generalmente actúan como haptenos que al reaccionar y unirse a proteínas de la

piel pueden sensibilizar al sujeto y, al contactarse nuevamente con el hapteno, provocar una respuesta celular con eritemas, nódulos, flictenas por reacción inflamatoria. Es frecuente la respuesta de este tipo frente al níquel, tanino, cuero, tinturas y otros. Es importante poder realizar el diagnóstico diferencial entre la dermatitis atópica, mediada por hipersensibilidad tipo I y la dermatitis de contacto, dado que al ser mecanismos diferentes, el tratamiento, si bien tienen aspectos comunes, no es el mismo en un caso u otro, ya que por ejemplo no son eficaces los antihistamínicos ni el tratamiento desensibilizante.

- c) **granulomatosa** (21 a 28 días). Esta forma de respuesta se da a nivel sistémico, en distintos órganos, como por ejemplo el pulmón. El modelo clásico es la tuberculosis pulmonar, donde el *granuloma tuberculoso* es la manifestación de la respuesta inmunológica celular frente a la micobacteria que origina daño tisular, eliminación de los microorganismos y reparación. La formación del granuloma es mediado por la respuesta Th1. El microorganismo es fagocitado por los macrófagos, pero no puede eliminarlo y libera citocinas que estimulan Th1, cuyas citocinas estimulan la actividad de los macrófagos, linfocitos T citotóxicos y células NK. El granuloma presenta una zona central de células muertas y micobacterias, rica en lípidos, rodeada de linfocitos y macrófagos. Hacia la periferia la proliferación de macrófagos puede originar células multinucleadas y unas formas llamadas epitelioide que rodean el granuloma remedando una cápsula. La liberación de citocinas, enzimas y especies reactivas del oxígeno por parte de los macrófagos y el microambiente generado destruyen a los microorganismos, cuyos detritus, junto con las células propias que mueren por acción de los productos liberados por los macrófagos, forman una sustancia similar al queso, llamada caseum que es eliminado y así da lugar a una cavidad o caverna. El paso siguiente es el colapso de ésta y la reparación cicatrizal del tejido. Todos estos pasos pueden variar según la respuesta inmunitaria (véase cap. 23-4). En los pacientes con SIDA, por ejemplo, al ser deficitarios en la respuesta celular no hacen granulomas y las formas de tuberculosis son de tipo diseminada o extrapulmonares.

Otras enfermedades infecciosas cursan con formación de granulomas, como la *lepra*, la *esquistosomiasis* y algunas *micosis* profundas.

Respuesta tipo IV en autoinmunidad. En este caso se activan linfocitos T autorreactivos específicos contra un órgano en particular, como el caso de la *diabetes tipo I*, donde los islotes de Langerhans se encuentran rodeados de linfocitos y macrófagos, con destrucción de las células beta del páncreas y la consiguiente disminución de la producción de insulina. En la *artritis reumatoidea* se observa infiltrado linfocitario y de macrófagos en la sinovial articular con daño tisular y presencia de citocinas proinflamatorias y de Th1; recientemente se ha encontrado IL-17. Si bien se desconoce el Ag disparador, a nivel experimental se induce la artritis reumatoidea con colágeno y otras proteínas del tejido conectivo. En el síndrome de Sjögren se ha podido demostrar la presencia de linfocitos CD4⁺ Th1 y linfocitos B en las glándulas salivales y lagrimales.

La síntesis anómala de citocinas puede generar otras enfermedades autoinmunes, como la enfermedad inflamatoria intestinal, la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa.

La actividad T citotóxica, especialmente frente a virus, puede dar también lesiones por daño tisular, como el caso de la respuesta al virus de la hepatitis B que puede llevar a la hepatitis crónica autoinmune, mientras que la respuesta contra Coxsackie 8 puede desarrollar una miocarditis autoinmune.

Respuesta tipo IV en trasplante. El rechazo agudo y subagudo en el trasplante, especialmente en el trasplante renal, se debe a la respuesta celular alogénica contra el órgano trasplantado. Los linfocitos T reaccionan contra los HLA no propios y provocan una respuesta celular que según su intensidad provocará el rechazo con lesiones tisulares del injerto como de tejidos propios circundantes con intervención de macrófagos, células NK y citocinas. Por ello es importante el estudio de la histocompatibilidad, en busca del dador que tenga un haplotipo HLA lo más parecido al paciente o, en el caso de trasplante de médula ósea, que sea histoiéntico. Para evitar el rechazo se inmunosuprime al paciente durante un tiempo, en busca de disminuir la respuesta inmune y dar tiempo para que se genere tolerancia.

Se aclara que en el rechazo hiperagudo (el que se produce a las horas o primeros días del trasplante) intervienen anticuerpos anti HLA preexistentes que estos pacientes pueden tener por transfusiones recibidas o en el caso de las mujeres, especialmente las multíparas, por generar anticuerpos contra los HLA paternos.

Respuesta tipo IV en cáncer. A nivel experimental se ha podido provocar este tipo de respuesta frente a tumores sólidos, desafiados con Ag tumorales. Sin embargo, en el humano los tumores son poco inmunogénicos o los Ag tumorales se enmascaran o mimetizan. En algunos casos se genera tolerancia, con mecanismos similares a la tolerancia materno-fetal; en otros existen alteraciones en la inmunorregulación.

Clásicamente se consideró que en el cáncer existe una falla de la vigilancia inmunológica. Por otra parte, los pacientes inmunodeficientes o los pacientes autoinmunes pueden desarrollar cáncer con mayor frecuencia que los sujetos normales y, a su vez, el cáncer, en determinadas etapas, es causa de inmunodeficiencia secundaria.

Autoinmunidad

Como se mencionó en el capítulo anterior, durante la maduración de los linfocitos T y B se produce la selección de células que formarán el repertorio linfocitario y se excluyen aquellas capaces de reaccionar contra lo propio, que mueren por apoptosis, mecanismo conocido como tolerancia central y que continúa en la madurez con la tolerancia periférica. Sin embargo, algunas células pueden escapar al mecanismo de apoptosis y ser células autorreactivas capaces de reaccionar contra lo propio generando autoinmunidad. Puede decirse que *la autoinmunidad es la pérdida de la tolerancia con alteración en la inmunorregulación.*

La respuesta inmune normal es autolimitada con producción de anticuerpos en pequeñas concentraciones contra los propios anticuerpos (antiidiotipos de la teoría de Jerne), formación de inmunocomplejos que se unen a los receptores Fc γ de los linfocitos B y los inhiben, células T que mueren por apoptosis en ausencia del Ag, linfocitos T activados que expresan CTL4 que al unirse a B7 inhiben la respuesta proliferativa. Cuando estos mecanismos se alteran, pueden activarse linfocitos T autorreactivos, inclusive por presentación de neoantígenos intracelulares expuestos ante el daño celular, producido por el proceso inflamatorio provocado por virus u otros microorganismos.

La presencia de autoanticuerpos puede darse en sujetos sin manifestaciones clínicas y es común encontrarlos en las personas mayores, probablemente por desbalance en la inmunorregulación. Sin embargo, cuando la producción de autoanticuerpos es estable contra un órgano en particular o con cantidades suficientes como para provocar daño tisular con un patrón determinado, generan enfermedades autoinmunes organoespecíficas o sistémicas, según el blanco de los autoanticuerpos o daño por respuesta celular.

Los pacientes con enfermedades autoinmunes tienen factores genéticos predisponentes. Algunos genes, como el gen AIRE (autoimmune regulación), han podido identificarse; otros se consideran genes asociados o genes de susceptibilidad, como muchos alelos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH), como el haplotipo HLA1, HLAB8, HLA DR3 presente en varias enfermedades autoinmunes, y muchos alelos, como el DR3 en el lupus eritematoso sistémico, el DR4 en la artritis reumatoidea (AR) del adulto, el B51 en la enfermedad de Behçet, entre los muchos conocidos.

Se considera que estas enfermedades, por lo general, son poligénicas y multifactoriales. El gatillo disparador de la manifestación clínica puede ser: infecciones, hormonas (los estrógenos tendrían un papel importante, dado que se observa una mayor incidencia en mujeres), estresógenos, tóxicos ambientales, luz UV, etc.

La ruptura de la tolerancia a nivel periférico puede estar asociado a genes de susceptibilidad o deberse a distintos mecanismos, como mutaciones o ausencia del gen PD-1 (*programmed dead-1*) que codifica para un receptor con motivos de tirosina inhibitorios presente en las células T activadas y cuya ausencia está asociada al desarrollo de

Cuadro 16-4. Factores que influyen en la ruptura de la tolerancia y generación de autoinmunidad

Ruptura de la tolerancia e inducción a la autoinmunidad

- Activación de la molécula coestimuladora CD28.
- Inyección de Ag con adyuvante por vía subcutánea.
- Estimulación de la coexpresión del Ag viral con coestimuladores B7.
- Ausencia o bloqueo del receptor CTLA-4.
- Bloqueo o antagonistas de CD40L necesario para cooperación T-B.
- Bloqueo de las moléculas de FAS o FASL, o mutaciones de moléculas FAS y FASL.
- Defectos en la interacción de las células dendríticas.
- Deficiencia de linfocitos tipo CD4+ CD25+++.
- Deficiencia de IL-10 y TGF β .
- Genes de susceptibilidad.
- Polimorfismo de PD-1 (*programmed dead-1*, gen del receptor de linfocitos activados), FcR γ Ib, CD22.
- Aumento de CD19, CD45, BAFF.
- Deficiencia de protein tirosina fosfatasa SHP-1, Lyn, Fyn.
- Mimetismo molecular.
- Factores hormonales: estrógenos (ERa, ERb en LB) inducen bcl-2, CD22, SHP-1.
- Factores estresógenos.
- Agentes químicos (sílice, mercurio, hidralazina, procainamida).

autoinmunidad, o mutaciones de la vía de la apoptosis o del receptor Fas o el Fas ligando que permiten la persistencia de linfocitos o sobreexpresión de CD19 (cuadro 16-2).

Los microorganismos pueden intervenir por distintos mecanismos como:

- Antigenicidad cruzada con Ag propios (*mimetismo molecular*). Con activación de linfocitos T autorreactivos con autoAg presentes en dosis subóptimas que, una vez activados, pueden persistir con una reacción autoinmune contra los Ag propios contra los cuales no reaccionaban previamente.
- Activación de las CPA por los microorganismos, que pueden inducir moléculas coestimuladoras para la activación de células T autorreactivas, como la endotoxina bacteriana.
- Presentación de Ag que normalmente están ocultos al sistema inmunitario, en sujetos genéticamente predispuestos.
- El microorganismo puede actuar de *carrier* al unirse a Ag propios y modificar la tolerancia hacia éstos mismos.
- Acción de los superantígenos que se unen a las

regiones V β del TCR menos variables que el sitio habitual de reconocimiento del Ag y es capaz de estimular todas aquellas células que porten ese segmento de V β del TCR específico, lo que podría activar a linfocitos autorreactivos con producción de enfermedades autoinmunes o provocar los brotes de estas enfermedades.

También se ha comentado el papel de la regulación de citocinas, especialmente las de Th1, involucradas en fenómenos de autoinmunidad por mecanismos celulares y las Th17, que junto con la IL-23 se asocian a autoinmunidad. Esta subpoblación aumenta ante el déficit de INF γ y es estimulada por TGF β e IL-6 (fig. 16-6).

El conocimiento de los distintos mecanismos involucrados en autoinmunidad ha permitido el avance en estrategias terapéuticas para la inmunosupresión con distintos fármacos, como los corticoides, la azatioprina, citostáticos, como metotrexato, ciclofosfamida, y anticuerpos monoclonales o receptores solubles que inhiben los efectos de citocinas o bloquean a linfocitos T o B. Se ha ensayado también generar tolerancia, pero no se han obtenido buenos resultados.

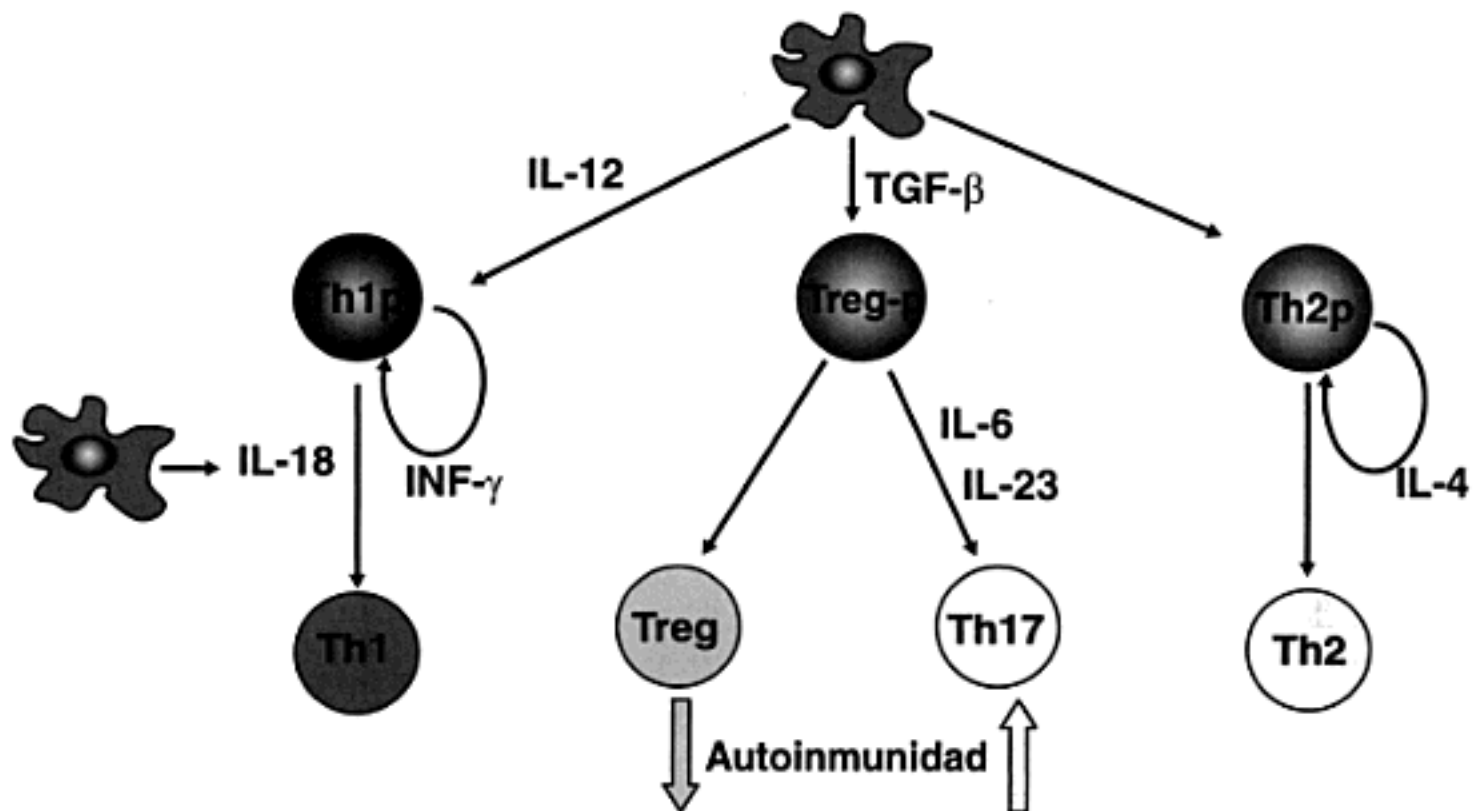


Fig. 16-6. Citocinas en autoinmunidad. IL-12, INF γ e IL-18 los procesos autoinmunes celulares, con patrón Th1. Sin embargo, la deficiencia de INF γ se ha visto asociada a procesos autoinmune. Se comprobó que con la disminución de INF γ e IL-4 aumenta TGF β que estimula a la Th reguladora que en presencia de IL-6 e IL-23 estimula el patrón Th17 asociado a autoinmunidad (modificado de Gutcher I y Becher B).

Resumen

Se analizaron dos grandes aspectos en la respuesta alterada. Por un lado, la falta o la disminución de la respuesta que da origen a las inmunodeficiencias primarias y secundarias y, por otra parte, la respuesta exagerada o aberrante, denominada al principio como **alergia** y luego como **hipersensibilidad**.

Las *inmunodeficiencias primarias* son enfermedades genéticas que se heredan en forma autonómicas recesivas o ligadas al cromosoma X. Pueden producirse por defectos madurativos, déficits enzimáticos, alteraciones en los distintos niveles de la respuesta inmune y su regulación o déficit, o alteraciones de algunos de los componentes del sistema inmune.

Las manifestaciones más comunes son las infecciones recurrentes durante la lactancia o en la infancia. Generalmente, las infecciones oportunistas o por gérmenes intracelulares orientan hacia el diagnóstico de inmunodeficiencias celulares, mientras que en el caso de infecciones por gérmenes extracelulares piógenos puede deberse a deficiencia de la respuesta por anticuerpos, de la fagocitosis o del complemento. Existen numerosas enfermedades clasificadas según el déficit inmunológico o el defecto genético.

El laboratorio inmunológico es fundamental para el diagnóstico adecuado de las inmunodeficiencias primarias y debe explorarse la respuesta adaptativa, analizando las respuestas celular, humoral, y en la respuesta inespecífica: la fagocitosis, el complemento y las células NK.

Las *inmunodeficiencias secundarias* se producen por distintos factores que alteran el sistema inmune o la respuesta inmune, como las infecciones virales, por ejemplo: la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) que ataca principalmente al linfocito T CD4⁺ y da el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Otros virus, como el sarampión o el virus Epstein Barr, pueden dar alteración de la respuesta inmune. Otros factores son la desnutrición, los tratamientos inmunosupresores, el cáncer diseminado o trastornos metabólicos, como la diabetes, e inclusive algunas enfermedades autoinmunes.

La *alergia o hipersensibilidad* es la respuesta exagerada o aberrante del sistema inmune. Según Gell y Coombs puede clasificarse a la hipersensibilidad en cuatro tipos, según el mecanismo inmunológico predominante.

La *hipersensibilidad tipo I* o *atopia* es mediada por IgE y predomina la respuesta Th2. Se reconocen dos etapas. La primera sensibilizante, donde el Ag o alérgeno es presentado al sistema inmune por primera vez, y genera la síntesis de IgE específica que se fija a los receptores Fc epsilon de alta afinidad presentes en mastocitos y basófilos. En la segunda etapa desencadenante, el alérgeno ingresa por segunda vez y se fija a las moléculas de IgE unidas a los receptores que se entrecruzan y traducen señales intracelulares que lleva a la fase temprana de la respuesta con la degranulación y la liberación de sustancias vasoactivas, como la histamina, el factor activador de plaquetas y mediadores lipídicos, como los leucotrienos y las prostaglandinas que favorecen el fenómeno inflamatorio alérgico, con vasodilatación, congestión, broncoconstricción, edema con activación del complemento. Se estimula la síntesis de citocinas proinflamatorias y quimioattractantes de eosinófilos, neutrófilos y linfocitos. También actúan C3a y C5a que atraen también eosinófilos y neutrófilos. Los eosinófilos son característicos de la fase tardía que se da entre las 2 a 24 hs de comenzada la etapa desencadenante y liberan enzimas, proteína básica mayor y la proteína catiónica, que provocan daño tisular e inflamación. También pueden hacer ADCC y favorecer la eliminación de parásitos del tipo helmintos. Las enfermedades más conocidas por este tipo de hipersensibilidad son el asma bronquial, el eccema, la rinitis alérgica, la conjuntivitis alérgica, la alergia a medicamentos y el shock anafiláctico. El tratamiento es contra los efectores (corticoides, antihistamínicos y antileucotrienos y, en el caso del shock anafiláctico, la adrenalina) y desensibilizante para generar tolerancia hacia los alérgenos.

La *hipersensibilidad tipo II* es mediada por anticuerpos IgG o IgM que se unen a Ag celulares o histicos propios o con antigenicidad cruzada con Ag microbianos. Pueden actuar por lisis celular mediada por Ac fijadores de complemento, por fagocitosis de células opsonizadas con Ac y complemento, y por citotoxicidad mediada por Ac o ADCC. También se forman Ac funcionales contra

receptores de glándulas endocrinas. A este último grupo, que originan enfermedades endocrinológicas por hiper o hipofunción, se las agrupa en *la hipersensibilidad tipo V*. La mayoría de las enfermedades por hipersensibilidad tipo II se produce por la presencia de Ac dirigidos contra Ag pertenecientes a un órgano blanco y da origen a las enfermedades autoinmunes organoespecíficas, como el síndrome de Good-pasture, anemias hemolíticas autoinmunes, tiroiditis de Hashimoto, Graves Basedow, miastenia gravis, glomerulonefritis autoinmune y otras.

La *hipersensibilidad tipo III* se produce por la presencia excesiva de inmunocomplejos con Ag propios o extraños que precipitan en la pared de los vasos y en los tejidos, activan el sistema del complemento, atraen fagocitos y se desencadena un fenómeno inflamatorio con daño tisular. Las manifestaciones son generalmente sistémicas, como las vasculitis o el lupus eritematoso sistémico. La primera descripción clínica corresponde a la enfermedad del suero caracterizada por fiebre, exantema y artritis, y la forma experimental es el llamado fenómeno de Arthus.

La *hipersensibilidad tipo IV* es mediada por la respuesta celular y puede darse por daño tisular por acción de los macrófagos, de los linfocitos T y células NK, y por acción inflamatoria desencadenada por las citocinas, especialmente Th1.

Se ven distintas manifestaciones: la tipo tuberculínica o de hipersensibilidad retardada que se manifiesta a las 24 o 48 hs de inyectado el Ag al que el sujeto está previamente sensibilizado; la de contacto con respuesta de 24 o 48 hs, como el caso de la dermatitis de contacto en reacción a distintos haptenos, como el níquel, cuero, tinturas, etc.; la granulomatosa que se da en los órganos en respuesta a distintos agentes infecciosos a los 21 o 28 días, como se ve en la tuberculosis, lepra, esquistosomiasis y algunas micosis profundas. La respuesta de hipersensibilidad tipo IV también puede ser de linfocitos autorreactivos que al responder contra Ag en órganos blancos dan enfermedades autoinmunes, como la diabetes tipo I, la artritis reumatoidea, la esclerosis múltiple y la miocarditis autoinmune.

En el rechazo agudo y subagudo del trasplante renal también interviene este tipo de respuesta.

La *autoinmunidad* ocurre por pérdida de la tolerancia. Múltiples factores pueden desencadenar este proceso. Las enfermedades autoinmunes son generalmente poligénicas y multifactoriales, incluyendo el sexo, ya que hay un predominio de mujeres con trastornos autoinmunes. Los microorganismos pueden jugar un papel importante al generar respuestas por mimetismo molecular, activación de las CPA por coestimulación, unión con otras proteínas o por acción de los superantígenos. Distintas mutaciones de genes relacionados con proteínas de señalización intracelular que intervienen en la inmunorregulación se han asociado a autoinmunidad, así como la sobreexpresión de moléculas o falta de inhibición de la respuesta inmune.

Las enfermedades autoinmunes pueden ser organoespecíficas, cuando se tiene uno o varios autoanticuerpos dirigidos a un determinado órgano o tejido, como se ven en las de hipersensibilidad tipo II o sistémicas cuando se manifiestan en todo el organismo y, generalmente, median mecanismos de tipo III. También los linfocitos T autorreactivos pueden dar una respuesta celular con daño tisular, como en la diabetes tipo I o la artritis reumatoidea.

En todos estos casos el tratamiento es inmunosupresor con corticoides, azatioprina, metotrexato, ciclofosfamida, ciclosporina y tratamientos biológicos con distintos anticuerpos monoclonales contra receptores de citocinas o anti TNF, o bloqueantes de linfocitos T o de la señalización de activación; es muy amplia la gama de nuevos productos en ensayos terapéuticos.

Preguntas de revisión

1. ¿Cuál de las inmunodeficiencias de anticuerpos es producida por mutación o delección del gen Btk?
2. Señale cuáles son las características correspondientes a la deficiencia de IgA.
3. ¿Qué tipo de células predominan en la fase tardía del proceso inflamatorio de hipersensibilidad tipo I?
4. ¿Qué es lo que caracteriza a la etapa de sensibilización de la atopia?
5. ¿Cuál es el mecanismo inmunopatológico predominante en la hipersensibilidad tipo III?
6. ¿Por qué no pueden utilizarse vacunas a gérmenes vivos atenuados en los inmunocomprometidos?

Problema 16-1

Una adolescente de 16 años consulta por síndrome febril prolongado, artralgias en las articulaciones proximales de miembros superiores, fatiga, alteración del sueño e irritabilidad y hematuria.

En el examen físico presenta aftas (lesiones blanquecinas en la mucosa oral), eritema malar bilateral y refiere que sus dedos cambian de color cuando está en contacto con el agua fría, presentado lesiones de vasculitis. Presenta disociación clínica radiológica (no hay clínica respiratoria, pero en la radiografía de tórax muestra imágenes compatibles con neumonitis) y el funcional respiratorio presenta un patrón restrictivo. El examen de laboratorio arrojó como resultado: anemia, eritrosedimentación elevada, linfocitosis y el examen de orina dio proteinuria ++, hematuria ++, sedimento de mediana cantidad de hematíes, escasos cilindros hialinos. En el proteinograma aparece muy aumentada la gammaglobulina con base ancha (2g/dL).

Diagnóstico presuntivo: colagenopatía (enfermedad autoinmune, tipo III por inmunocomplejos).

¿Qué estudios inmunológicos solicitaría?

Ante la sospecha de una enfermedad autoinmune solicita un colagenograma: dosaje de Ig, dosaje de C3 y C4, medición de CH50, factor antinúcleo (FAN) o anticuerpos antinucleares anti DNA, autoanticuerpos. Si sospecha una anemia hemolítica, se solicita Coombs directa e indirecta.

Datos de laboratorio de interés: dosaje de Ig.: IgG 2100 mg/dL, IgM 180 mg/dL, IgA 120 mg/dL, C3 56 mg/dL, C4 5 mg/dL, CH50 45 U, FAN 1/400 positivo patrón homogéneo, anti DNA positivo 1/80, anticuerpos antiglomerulo por IFI ++, Coombs directa positiva.

Hemograma: eritrocitos 2,9 millones/mm³, Hto 28%, Hb 9,10 mg/dL, leucocitos 5000, Fórmula: L 45%, Ns 45% E8% B0% M2%.

Recuento de linfocitos: CD3 79%, CD19 20%.

Estudio HLA: HLA A1, HLA A19, HLA B8, HLA B5, HLA Cw3, HLA Cw5, HLA DR3, HLADR7.

Diagnóstico: lupus eritematoso sistémico.

Preguntas:

1. ¿Por qué puede ser positiva la reacción de Coombs directa?
2. ¿Cuál sería la causa del valor de IgG?
3. ¿A qué se debería la vasculitis?
4. ¿Qué son los inmunocomplejos y por qué son patológicos en este caso?
5. ¿Puede decir si la paciente presenta la asociación más común de las enfermedades autoinmunes HLA A1, B8, DR3?
6. ¿Qué importancia puede tener conocer la tipificación HLA de estos pacientes?

BIBLIOGRAFÍA

Abbas AK, Lichtman AH. Inmunología celular y molecular. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2004 (5ª ed. en inglés Cellular and molecular immunology).

Carter L, Fouser LA, Jussif J, et al. PD-1:PD-L inhibitory pathway affects both CD4(+) and CD8(+) T cells and is overcome by IL-2. *Eur J Immunol*, 2002;32(3):634-43.

Danielian S, El-Hakeh J, Basilico G, et al. Bruton tyrosine kinase gene mutations in Argentina. *Hum Mutat*, 2003;21(4):451.

- Danielian S, Oleastro M, Rivas ME, Cantisano C, Zelazko M. Clinical follow-up of 11 Argentinian CD40L-deficient patients with 7 unique mutations including the so-called "milder" mutants. *J Clin Immunol*, 2007;27(4):455-9.
- Fainboim L, Geffner J. Introducción a la inmunología humana. 5ª ed. Buenos Aires: Panamericana, 2005.
- Fujimoto M, Sato S. B cell signaling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signaling device to regulate the balance of autoimmunity. *J Dermatol Sci*, 2007;46(1):1-9.
- Gutcher I, Becher B. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation. *J Clin Invest*, 2007;117:1119-1127.
- Leiva LE, Zelazko M, Oleastro M. et al. Primary immunodeficiency diseases in Latin America: The second report of the LAGID Registry. *J Clin Immunol*, 2007;27(1):101-8.
- Oberle N, Eberhardt N, Falk CS, Krammer PH, Suri-Payer E. Rapid suppression of cytokine transcription in human CD4+CD25 T cells by CD4+Foxp3+ Regulatory T cells: Independence of IL-2 Consumption, TGF-beta, and various inhibitors of TCR signaling. *J Immunol*, 2007;179(6):3578-87.
- Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ. Interleukin 18 and periodontal disease. *J Dent Res*, 2007;86(7):586-93.
- Palmero D, Eiguchi K, Rendo P, Castro Zorrilla L, Abbate E, González Montaner LJ. Phase II trial of recombinant interferon-a 2b in patients with advanced intractable multidrug-resistant pulmonary tuberculosis: long-term follow-up. *Int J Tuberc Lung Dis*, 1999;3(3):214-218.
- Platts-Mills T, Leung DY, Schatz M. The role of allergens in asthma. *Am Fam Physician*, 2007;76(5):675-80.
- Reyes SLI, León BF, Rozas V MF, González JP, Naves PR. BAFF: Una citoquina reguladora de linfocitos B implicada en autoinmunidad y cáncer linfoide. *Rev Med Chil*, 2006;134(9):1175-84.
- Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, Kotzin BL, Schroeder HW. Clinical immunology. Principles and practice. 2nd ed. New York: Mosby, 2001, reprint 2003.
- Steinman L. A brief history of Th17, the first major revision in the Th1/Th2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med*, 2007;13(2):139-145.
- Stockinger B, Veldhoen M. Differentiation and function fo Th17 T cells. *Curr Opin Immunol*, 2007;19:281-286.
- Yu CC, Mamchak AA, De Franco AI. Signaling mutations and autoimmunity. *Curr Dir Autoimmun*, 2003, 6:61-88
<http://bioinf.uta.fi/xml/idr/classification.xml>

RELACIÓN AGENTE INFECTANTE-HOSPEDADOR

Marta Negroni

Contenidos

Factores necesarios para que se produzca una enfermedad infecciosa. Condiciones del microorganismo. Respuesta del hospedador. Clasificaciones de las enfermedades infecciosas. Epidemia, endemia y pandemia. Postulados de Koch. Signos y síntomas. Epidemiología. Tasa de incidencia y prevalencia. Reservorio. Fuente de infección. Hábitat. Mecanismos de transmisión. Puertas o vías de entrada. Etapas de las enfermedades infecciosas. Hospedador susceptible. Vías de salida. Mecanismos de agresión. Virulencia y patogenicidad.

Objetivos

- Enumerar las condiciones necesarias para que se produzca una enfermedad infecciosa.
- Citar las diversas clasificaciones de los microorganismos.
- Definir sin error el concepto de colonización.
- Enumerar las respuestas del organismo de acuerdo con el equilibrio que se establezca entre el patógeno y el hospedador o anfitrión.
- Describir las distintas clasificaciones de las enfermedades infecciosas.
- Definir los postulados de Koch.
- Diferenciar síntomas de signos.
- Definir epidemiología.
- Describir la diferencia entre reservorio y fuente de infección.
- Enumerar los mecanismos de transmisión.
- Citar las etapas de las enfermedades infecciosas.
- Enumerar vías de salida de los microorganismos y dar ejemplos.
- Enumerar mecanismos de agresión.
- Citar las diferencias entre exotoxinas y endotoxinas.
- Diferenciar patogenicidad de virulencia.

FACTORES NECESARIOS PARA QUE SE PRODUZCA UNA ENFERMEDAD INFECCIOSA

El ser humano comparte el ambiente con infinidad de microorganismos, pero además alberga en su interior un número elevado de gérmenes. Como se dijo en el capítulo de introducción, hay bacterias, hongos y parásitos en muy diversos hábitats. Por lo tanto, el hecho de que se produzca una enfermedad dependerá de factores atribuibles a:

1. Condiciones del microorganismo.
2. Condiciones del hospedero, hospedador o anfitrión.
3. Condiciones del ambiente.

Condiciones del microorganismo

La clasificación de los microorganismos puede enfocarse desde distintos puntos de vista y uno de ellos consiste en tomar en cuenta su capacidad de producir enfermedad o su incapacidad de hacerlo. Según este criterio hay **microorganismos no patógenos** y **microorganismos patógenos** (*patos*: enfermedad, *genos*: producir o generar). Los primeros a su vez pueden subdividirse en **saprófitos** y **comensales**. Los microorganismos patógenos actualmente se subdividen en **oportunistas**, **patógenos estrictos**, **patógenos facultativos** y **emergentes**.

Los **saprófitos** viven fundamentalmente en el **suelo**, de donde extraen los nutrientes adecuados para su desarrollo.

Los **comensales** llevan a cabo este proceso en el **hospedador**, animal o humano, del cual obtienen las condiciones indispensables para su supervivencia.

Los **patógenos humanos estrictos siempre se encuentran asociados con la enfermedad** que son capaces de producir. En comparación con los miles de microbios que hay, los patógenos humanos **son pocos**. (cuadro 17-1)

Los **patógenos oportunistas** son los que sólo causan cuadros clínicos en **enfermos inmunocomprometidos**.

Los **facultativos**, como su nombre lo indica, son los microorganismos patógenos que **pueden actuar o no como agentes productores de enfermedades**.

Dentro de los patógenos, algunos pueden producir más de un tipo de enfermedad.

La categoría de **emergentes** ha sido destinada a microorganismos que se **identifican cada vez con mayor frecuencia en enfermedades que antes eran muy poco comunes**, como por ejemplo la infección por *Hanta virus*, el virus de la gripe aviar y otros.

Entre las **condiciones del microorganismo** es conveniente destacar que la principal es **que se encuentre en número suficiente**.

Uno de los mecanismos defensivos con que cuenta el organismo es la presencia de la **“microbiota normal”**.

Biota y microbiota

Biota

La biota es el conjunto de seres vivos, flora y fauna en un ambiente determinado.

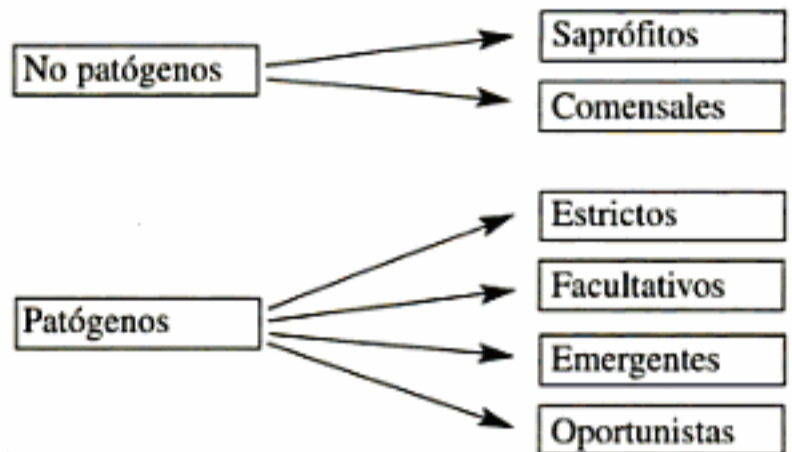
Microbiota

La microbiota es el **conjunto de microorganismos (bacterias, hongos y parásitos)** que habitan en la superficie cutánea y en las distintas cavidades naturales. Se calcula que la población microbiana que alberga cada ser humano podría llegar a 100 billones de microorganismos.

Los integrantes de la microbiota **se localizan especialmente en las zonas por las que podrían acceder los patógenos** y de ese modo establecen una acción competitiva con ellos (antagonismo bacteriano). Esta competitividad se debe a la necesidad de utilizar nutrientes y de ocupar lugares a los cuales adherirse. Esto se conoce como **antagonismo microbiano**.

Además, los integrantes de la microbiota ejercen una acción benéfica, porque segregan produc-

Cuadro 17-1. Clasificación de los microorganismos



tos, conocidos como **bacteriocinas**, que pueden ser tóxicos para otros microorganismos. Por otra parte, su presencia estimula una respuesta asociada con la producción de anticuerpos designados **anticuerpos naturales**.

La microbiota se instala en el momento del nacimiento si el parto es normal o al poco tiempo de nacer si es por operación cesárea; luego estos microorganismos siguen instalándose por contacto superficial, por inhalación o por deglución. Estos conglomerados antes se designaban como **“flora normal”**.

Colonización

Los microorganismos que se instalan en cada región varían según las características ambientales de ésta y, aunque se producen recambios, su número se mantiene más o menos estable. Esto es lo que se conoce como colonización. Debe tratar de **mantenerse ese número estable y compatible con la salud**, porque la alteración o la supresión de algunas especies residentes normales de determinadas regiones pueden desencadenar enfermedades.

En cada región o ambiente, a su vez, hay distintas zonas con características diversas y esas zonas reciben el nombre de **nichos ecológicos** (véase cap. 18).

Los patógenos desencadenan enfermedades cuando llegan, como se destacó, en número suficiente a órganos o tejidos que normalmente son estériles.

La **facultad de generar enfermedad está condicionada por la capacidad del agente infeccioso de producir cápsula, fimbrias, enzimas o toxinas, o de utilizar vías metabólicas alternativas**.

De acuerdo con el equilibrio que se establezca entre las condiciones del agresor y las del hospedero, habrá un **estado de tolerancia o se producirá una enfermedad** más o menos severa y en ciertos casos mortal.

Antes de continuar es conveniente definir algunos términos para entender mejor el alcance de las enfermedades infecciosas.

El término **infección** suele usarse como sinónimo de enfermedad infecciosa, pero, en verdad, la **infección es la entrada y permanencia (o colonización) de microorganismos en un organismo sin que se perciba una alteración. La enfermedad infecciosa se establece cuando la persistencia o el aumento de esos microorganismos provocan una modificación del estado o de las funciones del hospedador.**

Antes las enfermedades infecciosas se conocían como **infectocontagiosas**, adjetivo que denotaba la posibilidad de que la enfermedad pasara de un hospedero a otro. Ese término ha sido reemplazado por el adjetivo **transmisibles** (del latín *trans*: más allá, *missio*: envío) debido a que no todas las enfermedades poseen esa cualidad, sino que dependen de factores que iremos analizando.

Respuesta del hospedador

Aquellos individuos en los que los patógenos gozan de un estado de tolerancia son los que se conocen como **portadores**. Los portadores se encuentran en un estado de **infección no evidente o subclínica**. Esto ocurre, por ejemplo, con *Neisseria meningitidis*, que puede ser transportada en la orofaringe de los individuos sanos. Hay condiciones del hospedador, tales como la edad, el estado de nutrición, factores hormonales y laborales, causas genéticas y psíquicas o el estrés que lo hacen más vulnerable. Estos individuos difícilmente son portadores, sino que son los que padecen la enfermedad.

CLASIFICACIONES DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Las enfermedades infecciosas pueden ser clasificadas **según el agente infeccioso** que las desencadena y así pueden ser categorizadas como bacterianas, micóticas, parasitarias y virales.

Como ya se ha dicho, en la actualidad las enfermedades infecciosas se denominan **transmisibles**, aunque algunas son francamente contagiosas. Existen otras que no son trasmisibles, sino que se adquieren a partir de la misma fuente de infección y son **no trasmisibles**.

Según su evolución puede clasificárselas en:

- Agudas**, que son las que se instalan rápidamente pero duran pocos días.
- Crónicas**, que son las que presentan un comienzo más lento y persisten más tiempo.

c) **Subagudas**, que son aquellas cuyas características son intermedias.

d) **Latentes**, que son aquellas enfermedades en las que el agente etiológico desencadena un cuadro clínico que aparentemente cura pero después de un tiempo variable genera otras manifestaciones. Los *Herpesvirus* se caracterizan por provocar este tipo de patologías, aunque en la actualidad se las denomina **enfermedades o infecciones persistentes**.

Hay autores que a la evolución normal de una enfermedad la describen como **“historia natural de la enfermedad”**.

Según su origen se reconocen enfermedades infecciosas **endógenas** (cuando se deben a la microbiota propia del enfermo) o **exógenas** (cuando la fuente de infección proviene del exterior) (véase más adelante).

Según su localización o extensión; las enfermedades infecciosas pueden ser **localizadas, o generalizadas o sistémicas**, o se habla de un **foco de infección**. Las enfermedades localizadas son aquellas que se mantienen circunscriptas en una zona que, en general, corresponde a la vía por la que accedió el microorganismo; mientras que la enfermedad es generalizada cuando se produce su diseminación a diferentes tejidos u órganos.

Se habla de **foco de infección** cuando un microorganismo se mantiene en una zona determinada, pero es capaz de provocar alteraciones en otra parte (es probable que esto acontezca como consecuencia de infecciones dentarias). Estas alteraciones a distancia en algunos casos no demuestran la presencia del agente agresor y se dice que son **lesiones deshabitadas o por hipersensibilidad**.

Según la relación que establezcan los microbios con la sangre, se habla de **bacteriemia**, que es la presencia de bacterias en ese tejido y constituye un estado pasajero, o de **septicemia**, que es la presencia y la multiplicación de las bacterias en la sangre. Estos términos pueden ser reemplazados por **fungemia, viremia o parasitemia** si se trata de otros agentes etiológicos. **Toxemia** es la acumulación de toxinas en la sangre. **Piemia** se reserva para indicar la existencia de pus en abscesos múltiples, consecuencia de una bacteriemia generalizada.

Según los factores del microorganismo que desencadenen la enfermedad, se dice que hay **enfermedades infecciosas puras, toxicoinfecciosas o tóxicas**.

Según el momento en el que el patógeno haya afectado el organismo, se dice que una **infección es primaria** cuando es la que ha iniciado el cuadro clínico o que es **secundaria** si ha

sido provocada por un microorganismo que aprovechó las bajas defensas de un paciente en el que ya existía otra enfermedad o infección primaria. Hay quienes llaman **sobreinfección** a una nueva infección que complica la evolución del tratamiento antimicrobiano de un proceso infeccioso ya existente; la sobreinfección, que es resultado de la invasión de bacterias u hongos resistentes al fármaco o los fármacos que se están administrando, puede ocurrir en el sitio de la infección original o en un sitio remoto. Este concepto no es el mismo que adoptan algunos clínicos que utilizan el término **sobreinfección** para referirse a cuadros clínicos debidos a microorganismos que no son colonizadores habituales de determinado nicho ecológico y aprovechan condiciones del hospedador para instalarse y desencadenar alteraciones (cap. 20-1).

Según el lugar donde se haya contraído el agente infectante, hay enfermedades conocidas como **infecciones nosocomiales u hospitalarias**; son aquellas enfermedades que no estaban presentes en el momento de la internación y se manifiestan durante ésta.

Existen, además, otras fuentes que se verán más adelante.

Epidemia, endemia y pandemia

Según el número de personas que afectan estas enfermedades y la distribución que tienen, hay epidemia, endemia y pandemia.

Una **epidemia** se manifiesta como un brote que afecta a gran número de personas en un momento dado, pero en una zona no muy amplia.

Las **endemias** son aquellas patologías circunscritas a una determinada zona o región geográfica, pero en un número limitado de casos. Estas se caracterizan por que en esa zona hay animales y humanos infectados. Si los casos aumentan bruscamente, se está en presencia de una **endemoepidemia**.

La **pandemia** suele ser de comienzo repentino, pero de distribución universal.

Las **esporádicas** son las que se presentan sólo ocasionalmente.

Postulados de Koch

Hacia fines del siglo pasado Robert Koch sentó las bases para establecer la etiología específica del carbunco (véase cap. 23) y luego de la tuberculosis y posteriormente de otras enfermedades infecciosas, con las siguientes premisas que desde entonces se conocen como los postulados de Koch:

1. Siempre debe encontrarse el mismo tipo de patógeno en todos los casos de una enfermedad determinada.
2. Debe poder cultivarse y aislarse este patógeno del material o de las muestras obtenidas del paciente.
3. El microorganismo aislado e inoculado en un animal de laboratorio debe reproducir la enfermedad.
4. De los órganos o tejidos de ese animal debe poder volver a aislarse el mismo patógeno.

Con posterioridad se comprobó que estos postulados no se cumplían en todas las enfermedades bacterianas, como por ejemplo en el caso de la sífilis, y para salvar ese inconveniente se agregó otro postulado, según el cual, cuando un patógeno no puede aislarse y cultivarse, debe ser posible ponerlo de manifiesto por métodos inmunológicos (véase en el capítulo 31 la guía de trabajos prácticos).

Recientemente se han expuesto los **postulados moleculares de Koch**.

El primer postulado sostiene que el fenotipo o propiedad bajo investigación debería asociarse con cepas o especies patógenas y no debería presentarse en las no patógenas.

De acuerdo con el segundo postulado, el tratamiento por inactivación específica del gen o genes asociados con la virulencia debe conducir a la disminución o desaparición de ésta.

Por último, el reemplazo del gen mutado o alterado por otro salvaje debe restablecer la virulencia.

Además, debería poder determinarse el patógeno por métodos de biología molecular.

Signos y síntomas

Hay microorganismos que producen signos y síntomas propios, o sea, bien característicos, como por ejemplo el agente causal del tétanos, y otros que dan lugar a signos y síntomas similares a los observados en otras patologías que comprometen los mismos órganos o tejidos.

Los **síntomas** son las alteraciones que percibe el enfermo. Son subjetivos.

Los **signos** son los cambios que puede observar o constatar el profesional. Son objetivos.

Síndrome es el conjunto de signos y síntomas de una enfermedad.

El conjunto de signos y síntomas, junto con los métodos complementarios y de laboratorio, permiten arribar al **diagnóstico específico**.

EPIDEMIOLOGÍA

Epidemiología (del griego *epi*: sobre y *demos*: pueblo) es la ciencia que se ocupa de estudiar cómo y por qué se producen las enfermedades, y en este caso también de la forma en que se transmiten, cuánto tiempo duran, a qué cantidad de personas afectan y la **frecuencia** con que lo hacen.

Tasa de incidencia y prevalencia

De acuerdo a la frecuencia, puede establecerse las **tasa de incidencia** y la **prevalencia**. La primera es el número de casos nuevos en un período determinado y el número de personas de la población afectadas por esa enfermedad es el número de casos por año. La prevalencia se establece dividiendo el número de personas enfermas (nuevas o no) en una población en un determinado período por el número total de habitantes de esa región.

Para que se establezca una enfermedad infecciosa debe haber, en primer lugar, una fuente de infección, un mecanismo de transmisión que la favorezca, una puerta de entrada adecuada y un hospedador susceptible. Luego sobreviene el **período de incubación**, que es propio de cada tipo de patógeno. Puede ser seguido por un **período prodrómico** (del latín: *prodromus*: precursor) corto, en que aparecen algunos signos y síntomas leves. Por último, se aprecia el **período de estado**, que varía de acuerdo con los mecanismos que pone en juego cada agente infectante. Éste es seguido por el **período de declinación y convalecencia**.

Durante la enfermedad puede establecerse una **vía de salida del agente etiológico, que pasará a ser fuente de infección para otro sujeto**, si la enfermedad es transmisible. En algunos casos esto acontece aún en el período de declinación y convalecencia.

Muchas veces una enfermedad persiste en una comunidad o región porque hay **reservorios**.

Reservorio

El reservorio es una **fuentes de infección continua, porque brinda las condiciones que permiten que el patógeno viva y se multiplique**, vale decir que es el ambiente donde se lo encuentra naturalmente.

Los reservorios suelen ser **animales salvajes o domésticos** a los que los microorganismos se han adaptado y pueden originar **zoonosis** (véase más adelante).

El **agua y la tierra** en ocasiones se comportan como reservorios inanimados, es el caso entre otros de algunas micosis.

Hay patologías infecciosas que sólo afectan a la especie humana, porque en ella hay reservorios; se trata de los **portadores**, por ejemplo: SIDA y difteria.

En algunas enfermedades **la fuente de infección puede coincidir con el reservorio**, mientras que en otras se trata de elementos diferentes.

Fuente de infección

La fuente de infección es el lugar o el material a partir del cual se adquiere el patógeno. Ese lugar puede ser **accidental**. Un ejemplo aclarará la diferencia: la fiebre hemorrágica argentina reconoce como reservorio al ratón de campo, que con su orina contamina los sembrados. El ser humano adquiere la infección al cosechar los cereales infectados por esa orina, de modo que la fuente de infección son los cereales contaminados, mientras que el reservorio ya se mencionó.

Además, hay fuentes de infección que coinciden con el hábitat de determinado agente infeccioso.

Hábitat

El hábitat es la región en la que vive normalmente una especie animal o vegetal, o un microorganismo.

Mecanismo de transmisión

La transmisión puede producirse:

- 1. Por contacto**, el que puede ser **directo** persona a persona (cutáneo o mucoso) (p. ej., besos, caricias, acto sexual) o **indirecto** (entre el reservorio o la fuente de infección y el hospedador interviene un objeto) que puede ser una jeringa, un instrumento quirúrgico, toallas, vajilla, etc.; estos objetos se denominan **fómites**. La transmisión también puede ocurrir a través de **aerosoles o gotitas** que se eliminan al hablar, toser, estornudar, reír, etc.; estas partículas mucosas que contienen los agentes infecciosos son las gotitas de Pflügge. Este tipo de transmisión sólo tiene lugar entre personas muy próximas (a no más de un metro de distancia) y por eso se lo incluye dentro del mecanismo de contacto (p. ej., influenza).
- 2. Por elementos de uso común**, como por ejemplo algunos alimentos, cuando no están bien cocidos o refrigerados, especialmente en las enfermedades entéricas. También puede haber transmisión por medicamentos, y a través de la sangre y sus derivados.
- 3. Por el aire**, es decir cuando la transmisión se produce a una distancia mayor de un metro, porque las gotitas de Pflügge se desecaron y el

agente infeccioso resistió la desecación (p. ej., *M. tuberculosis*) o porque el aire vehiculiza partículas de polvo que contienen el microorganismo. Éste es el caso de micosis, tales como la histoplasmosis y la coccidioidomicosis.

4. **Por el agua**, cuando no está potabilizada.

5. **Por vectores** (vector es todo lo que va de un punto a otro). En este caso generalmente se trata de **artrópodos** que pueden transmitir enfermedades por:

a) **Transmisión biológica.** El insecto pica a una persona infectada y chupa su sangre, que luego transmite a otro sujeto por el mismo mecanismo. Ciertos patógenos sólo se multiplican en estos animales y otros los necesitan para cumplir parte de su ciclo biológico.

b) **Transmisión mecánica.** Esta forma de transmisión es común en las **bacterias que afectan el intestino**. La mosca común se posa sobre heces infectadas y luego sobre alimentos en los que deja el microbio que posteriormente será ingerido por una persona.

c) **Vertical.** Por pasaje de la madre al feto.

d) **Iatrogénica** (del griego *iatros*: médico) (tratamientos mal encarados). Por implante de órganos o tejidos que estaban previamente infectados.

Para poder interrumpir la cadena epidemiológica (véase cuadro 17-2), es fundamental conocer las fuentes de infección y los posibles mecanismos de contagio.

Algunas enfermedades pueden contraerse por más de un mecanismo y en algunos casos esta clasificación es un poco imprecisa.

Puertas o vías de entrada

Las vías de entrada dependen del tipo de microorganismo, ya que es necesario que el agente tenga afinidad por ciertas células que le permitan adherirse y colonizar; por ejemplo, el virus de la gripe y el bacilo de la tuberculosis ingresan por las **mucosas del tracto respiratorio**; los virus de la poliomielitis y de la hepatitis A y el agente causal del cólera, entre otros, ingresan por la **mucosa gastrointestinal o por vía digestiva**; la sífilis se contrae a través de la **mucosa genital** o por contacto sexual; el agente productor del pie de atleta, *Trichophyton* spp. penetra por la **piel aún sana**; los estafilococos ingresan por la **piel en zonas de folículos pilosos**, por **vía parenteral**, a través de pinchazos de inyecciones o secundariamente en una herida previa; y una gran variedad de agentes infectantes, como por ejemplo *C. tetanii*, acceden fácilmente al organismo.

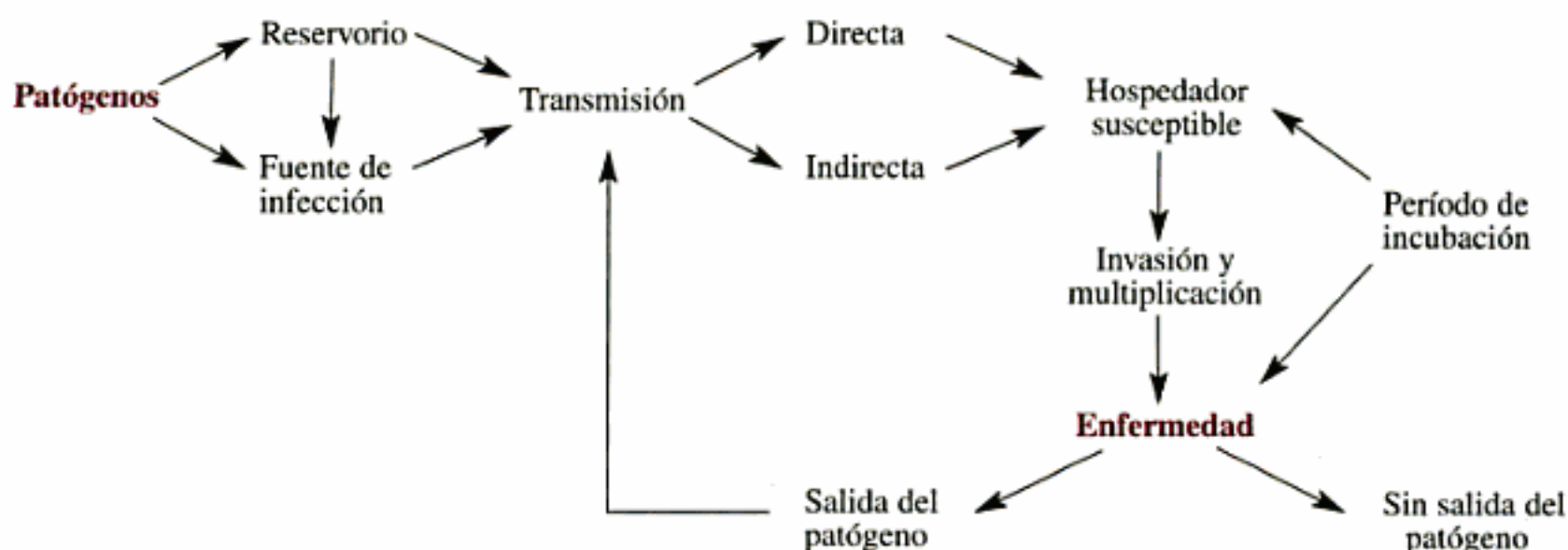
Otra forma de transmisión es por **vía trasplacentaria**, cuando la infección pasa de la madre al feto; este mecanismo se conoce además como transmisión vertical (como se mencionó) y por él se transmiten el SIDA, la toxoplasmosis y el virus de la rubeola.

Etapas de las enfermedades infecciosas

El **período de incubación** es el lapso transcurrido desde el ingreso del germen en el nuevo hospedador hasta la aparición de sintomatología manifiesta.

Este período varía mucho según el tipo de microorganismo; hay algunos microorganismos que a las seis horas ya dan síntomas (p. ej., la intoxicación por *S. aureus*) y otros que demoran 60 días o más (como el agente de la hepatitis B).

Cuadro 17-2. Cadena epidemiológica



El **período de estado** de las enfermedades infecciosas está sujeto a múltiples factores. Es muy característico o **específico para algunas**, como por ejemplo la varicela, o puede ser **inespecífico**, como acontece con muchas de las patologías que afectan el aparato respiratorio.

Es posible establecer etapas en este período de estado, a saber, una **etapa inicial o prodrómica** con manifestaciones, en general, inespecíficas; otra **etapa en la que los signos y los síntomas son específicos** de cada enfermedad y, por último, la etapa de la **convalecencia** (del latín *convalescere*: recobrar fuerzas).

En la mayor parte de las enfermedades existe la posibilidad de que la transmisión se produzca antes del período de estado o clínico y de ahí surge la necesidad de conocer las diferentes fuentes de infección y ejercer prevención.

Hospedador susceptible

Un hospedador puede ser susceptible por **falta de inmunización**, en ciertos casos o por **alteraciones físicas propias de ese organismo** (malnutrición, estrés, otra enfermedad de base) y en otros por **factores externos que puedan modificarlo**. Influyen los traslados, los cambios de hábitos, y los cambios climáticos y ecológicos.

De acuerdo con el ambiente en el que se producen las enfermedades, se dice que afectan a **comunidades cerradas (asilos, cárceles), o semi-cerradas (hospitales con régimen ambulatorio, escuelas, etc.), o abiertas**.

Vías de salida

Las vías de salida se relacionan con las vías o puertas de entrada. Las más comunes se vinculan con los aparatos respiratorio y gastrointestinal. Ha sido posible detectar la eliminación de patógenos a través de **secreciones nasales** (como en el caso del virus parainfluenza), **secreciones salivales** (como caso típico puede citarse el del virus de la parotiditis), **secreciones faríngeas** (esta vía es la que utilizan los estreptococos cuando ocasionan faringitis), **secreciones conjuntivales** (pueden mencionarse muchos agentes bacterianos y virales responsables de conjuntivitis y del tracoma), **secreciones genitales** (todas las enfermedades venéreas, entre ellas la blenorragia, la sífilis y el SIDA), **secreción láctea** (los agentes causales de mastitis), **por las heces** (todas las enfermedades entéricas, el cólera, la hepatitis A, etc.), a través de **exudados o fístulas** (especialmente las estafilococias), **por la orina** (los microorganismos responsables de infecciones urinarias, como por ejemplo

E. coli), **por la piel** (p. ej., los hongos productores del pie de atleta) y **por vía sanguínea** (como en el caso del HIV; ésta **no es una vía natural de salida sino más bien accidental o inducida**).

Como forma de **interrumpir esta cadena de eventos**, se ha recurrido al **aislamiento** de los enfermos que presentaban cuadros infecciosos con el objeto de evitar la diseminación de la enfermedad. Este aislamiento recibía el nombre de **cuarentena** debido a que los pacientes permanecían sin contactos durante cuarenta días. Esto no evitaba la transmisión durante el período de incubación. Por lo tanto, en muchos casos esta práctica ha caído en desuso y se recurre especialmente a ella para evitar complicaciones en los trasplantados.

Una forma de interrumpir la cadena es administrar antibióticos en forma preventiva a aquellas personas que han estado en un ambiente en el que se ha detectado algún caso, como se procede con la meningitis bacteriana.

Mecanismos de agresión

La capacidad de **permanecer en un tejido al cual adherirse constituye uno de los mecanismos de agresión primordiales**. A partir de esa localización el microorganismo puede **multiplicarse y segregar productos**, tales como **enzimas o toxinas**.

La **capacidad de adhesión está relacionada con estructuras propias de las células microbianas**, como la cápsula, los componentes de la pared celular, las proteínas de la membrana externa, como los lipopolisacáridos (LPS) y las fimbrias. La cápsula, como se recordará, aparte de facilitar la unión a estructuras, ejerce acción antifagocitaria.

Algunos de estos aspectos se tratarán con más detalle en los próximos capítulos.

La **ubicación intracelular de algunos agentes** hace que estén a resguardo de los mecanismos inmunológicos.

Las enzimas suelen variar mucho según el microorganismo, como se verá en el capítulo 23; su peligrosidad radica en que pueden disolver estructuras celulares y así facilitar la invasión.

Las toxinas tienen particular interés y su estudio ha permitido establecer una diferenciación entre exotoxinas y endotoxinas, cuyas características distintivas se citan en el cuadro 17-3.

Hay toxinas, como las de *V. cholerae*, que **comparten características de los dos tipos**.

Ciertos microorganismos segregan más de una toxina.

Otros factores de virulencia son consecuencia de la acción de **plásmidos y del estado de lisogenia** (cap. 8).

Cuadro 17-3. Características diferenciales entre exotoxinas y endotoxinas

Características	Exotoxinas	Endotoxinas
Producción por	Microorganismos grampositivos o gramnegativos	Microorganismos gramnegativos muertos
Composición química	Proteica	Lipopolisacárido o lípido A
Difusión	Fácil	Escasa
Acción	Letal	Pirógena
Inactivación por calor o rayos ultravioletas	Sí	No
Especificidad	Sí	No
Solubilidad	Sí	No

Como ya se ha comentado, los virus que afectan a los animales o al hombre ejercen diversos efectos citopáticos, desde citocídicos hasta transformaciones tumorales.

En la descripción de los distintos géneros que se abordan en este texto también se verá que hay microorganismos hábiles para segregar sustancias capaces de producir **interferencias en la respuesta defensiva del organismo**.

En el capítulo 10 se mencionan algunas de las acciones que producen algunos parásitos.

Virulencia y patogenicidad

Virulencia y patogenicidad no son sinónimos, ya que la **patogenicidad** es la capacidad de producir enfermedad y la **virulencia** es una forma de medir o cuantificar esa capacidad: cuanto mayor sea la posibilidad de que un microorganismo produzca enfermedad tanto más virulento será ese microbio.

Es necesario conocer todos estos factores en cada enfermedad para poder interrumpir los mecanismos de transmisión; además, deben estimularse las defensas del hospedador siempre que ello sea posible (véase cap. 30). Hay que controlar el ambiente y es responsabilidad de las autoridades y de los profesionales educar sanitariamente a la población.

Resumen

Los microorganismos se clasifican entre otros criterios según su capacidad de producir enfermedad (cuadro 17-1).

Una enfermedad infecciosa se establece cuando existe un desequilibrio entre los mecanismos del hospedador y la capacidad de agresión del microorganismo.

Todos los animales, y entre ellos el hombre, están colonizados por los microorganismos que constituyen la microbiota normal.

Las enfermedades infecciosas pueden ser clasificadas según su origen, según su evolución, de acuerdo con su localización, según su relación con la sangre, según el momento en el que se producen y según si se deben o no a microorganismos específicos; en otras enfermedades se considera el lugar en el que se las adquirió. Desde el punto de vista epidemiológico, las enfermedades infecciosas se clasifican según el número de personas que afectan y la distribución que adquieren.

Robert Koch estableció los postulados para establecer la etiología específica de las enfermedades infecciosas; a éstos se les agregaron posteriormente otros y en la actualidad se tienen en cuenta, además, aspectos moleculares.

Una enfermedad infecciosa provoca signos y síntomas que en conjunto constituyen un síndrome.

En la cadena epidemiológica (cuadro 17-2) hay que tener en cuenta la fuente de infección, los reservorios (si los hay), el mecanismo de infección, la puerta de entrada, los mecanismos de agresión de los microorganismos y las vías de salida.

Entre los mecanismos de agresión es muy importante la capacidad de adherirse, y segregar enzimas y toxinas.

Las toxinas se clasifican clásicamente en dos grandes grupos, exotoxinas y endotoxinas (cuadro 17-3), aunque hay algunas que participan de las características de ambos grupos.

Preguntas de revisión

1. ¿De qué factores depende que se produzca una enfermedad infecciosa?
2. ¿Cómo se clasifican los microorganismos según su capacidad de producir enfermedad o no?
3. Defina microbiota normal.
4. Defina colonización.
5. ¿Qué evolución puede seguir una enfermedad infecciosa?
6. Indique qué puede ocurrir como resultado del equilibrio agente infeccioso-hospedador.
7. Defina qué es un portador.
8. Enumere y explique las clasificaciones de las enfermedades infecciosas según los distintos criterios.
9. Describa los postulados de Koch y las modificaciones posteriores.
10. Defina síntomas, signos y síndromes.
11. ¿Qué estudia la epidemiología?
12. ¿Cuáles son los eslabones de la cadena epidemiológica?
13. ¿Qué etapas se distinguen en una enfermedad infecciosa?
14. Establezca la diferencia entre reservorio y fuente de infección.
15. Cite los mecanismos de transmisión de las enfermedades infecciosas.
16. Defina qué es un vector y por qué mecanismos puede actuar.
17. Mencione las vías o puertas de entrada.
18. Indique qué es el periodo de convalecencia.
19. ¿Qué vías de salida de microorganismos puede citar?
20. ¿Qué mecanismos de agresión poseen los microorganismos?
21. Enumere las diferencias entre endotoxinas y exotoxinas.
22. Defina virulencia y patogenicidad.

Problema 17-1

Un grupo de veinte espeleólogos concurre durante quince días a hacer estudios en una cueva en el sur de México. Dieciocho de ellos provenían del exterior y dos eran oriundos de México. Obtienen distintas muestras de tierra; tienen sumo cuidado en la forma en que trabajan. Ninguno de ellos se lastima. Uno de los científicos fue acompañado por su mascota, un perro de caza, que obedece mansamente y no molesta.

A los quince a veinte días de llegar de regreso a sus lugares de origen, dieciseis de ellos se sintieron mal. Tenían dolor de cabeza, malestar general; algunos además tenían tos y presentaban temperatura corporal elevada (hipertermia). Ninguno presentaba lesiones cutáneas o picaduras de insectos. El perro también tenía desgano e inapetencia.

Preguntas:

1. ¿Qué tipo de enfermedad pudieron adquirir?
2. ¿Qué son el dolor de cabeza, el malestar general, la tos y la hipertermia?
3. ¿Pudieron contagiarse entre ellos?
4. ¿Por qué el perro presentaba desgano e hipertermia?
5. ¿Por qué vía debe haber entrado la infección?
6. ¿Cómo se llama el lapso que media entre la estadía de ellos en la cueva y el comienzo de las molestias?
7. ¿Por qué hubo cuatro que no presentaron síntomas?

BIBLIOGRAFÍA

- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 9: Flora microbiana comensal y patógena en el ser humano. En: Microbiología médica. 5ª ed. Madrid: Elsevier Mosby, 2006; p. 83-87.
- Negróni M. Capítulo 16: Relación agente infectante hospedero. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; p. 179-186.
- Palmieri OJ. Glosario de términos epidemiológicos. En: Enfermedades infecciosas. Chile: Mc Graw Hill, 2001; p. 602-10.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Chapter 14: Principles of disease and epidemiology. In: Microbiology. An introduction. 8th ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2004; p. 408-436.

PARTE III

III

MICROBIOLOGÍA BUCAL

Mabel Marcantoni

Contenidos

El sistema inmune en la cavidad bucal. Factores del hospedador. Dominio salival. Dominio gingival. Origen y desarrollo de la microbiota bucal. Factores que afectan el desarrollo de los microorganismos en la cavidad bucal. Factores físico-químicos. Temperatura. Potencial de óxido-reducción (Eh). Concentración de hidrogeniones (pH). Dióxido de carbono. Nutrientes. La saliva. Composición. Funciones. Factores determinantes de la composición microbiana en los distintos nichos ecológicos. Adherencia microbiana. Receptores. Desarrollo y supervivencia. Las biopelículas y su potencial patogénico. Géneros y especies microbianas presentes en la cavidad bucal. Su distribución. Bacterias tradicionalmente definidas como gramnegativas. Bacterias de la cavidad bucal descritas tradicionalmente como grampositivas. *Phylum* Fusobacteria. Otros microorganismos. Micoplasmas. Hongos. Virus. Protozoos.

Objetivos

- Definir y establecer las diferencias entre los términos ecosistema, hábitat y nicho ecológico.
- Describir los distintos nichos ecológicos de la cavidad bucal.
- Establecer características y diferencias entre los componentes de los dominios salival y gingival.
- Mencionar y describir los componentes orgánicos e inorgánicos de la saliva considerada como sistema.
- Enumerar las funciones de la saliva y su papel en el proceso desmineralización-remineralización.
- Enumerar y describir los factores físico-químicos que determinan la composición de la microbiota bucal.
- Establecer las diferencias entre los microorganismos que constituyen la comunidad pionera y la comunidad clímax.
- Mencionar y describir los mecanismos de adherencia que utilizan los microorganismos de la cavidad bucal.
- Definir la biopelícula dental como forma de crecimiento bacteriano. Mencionar sus características generales.
- Identificar los factores que regulan la composición de la biopelícula.
- Reconocer las características morfológicas, tintoriales y requerimientos de oxígeno de los microorganismos aislados de la cavidad bucal.
- Citar la distribución de los microorganismos en la cavidad bucal.

INTRODUCCIÓN

La ecología comprende el estudio de las relaciones entre los microorganismos y el ambiente.

La cavidad bucal se considera un ambiente, y sus propiedades influyen en la composición y la actividad de los microorganismos que en él se encuentran.

El sitio donde los microorganismos crecen es el hábitat. Los microorganismos que permanecen y se

desarrollan en un hábitat particular constituyen una comunidad microbiana formada por especies individuales. La comunidad en su hábitat específico, junto con los elementos abióticos con los cuales los microorganismos están asociados, constituye un ecosistema.

El término nicho ecológico describe la función de los microorganismos en un hábitat particular y marca su papel en la comunidad. Este papel está dado por las propiedades biológicas de cada población microbiana.

Las distintas interacciones ecológicas que se producen en la cavidad bucal son las que determinan las características cualitativas y cuantitativas de la totalidad de su microbiota, en los distintos nichos ecológicos y en las distintas situaciones de salud (eubiosis) y enfermedad (disbiosis).

Los microorganismos que componen la microbiota bucal coexisten en ecosistemas que están regulados por una serie de factores conocidos como determinantes ecológicos internos y externos.

Últimamente se han descrito moléculas "señal", autoinductoras, que los microorganismos grampositivos y gramnegativos liberan al medio y les permiten la regulación del proceso de formación de las biopelículas, su forma natural de crecimiento (véanse caps. 19 y 20).

La microbiota de la cavidad bucal es compleja; hasta el 2001 se reconocían 500 especies; actualmente se calcula que serían unas 700 las que la habitan, ya que las técnicas de biología molecular han permitido establecer diferencias e identificar diversos microorganismos y sus genes.

EL SISTEMA INMUNE EN LA CAVIDAD BUCAL

Los tejidos duros y blandos de la cavidad bucal están bajo la protección de factores inmunes inespecíficos y específicos que tienden a limitar la

colonización microbiana, prevenir la penetración de sustancias nocivas a través de los tejidos y evitar así el perjuicio que esto acarrea.

FACTORES DEL HOSPEDADOR

Entre los factores del hospedador, que interrelacionan con la microbiota de la cavidad bucal, se destacan la integridad de las mucosas y de los tejidos periodontales, junto con la calidad y la cantidad de los constituyentes de la saliva y del exudado gingival, bajo la influencia de los componentes humorales y celulares del sistema inmune (véanse caps. 14, 15, 17).

Topográficamente la protección específica de las piezas dentarias está dividida en dos sectores. Uno de ellos, que es territorio de la inmunidad local secretora y corresponde a los dos tercios oclusales, se denomina dominio salival. El segundo sector es la zona cervical y está protegido por la inmunidad sistémica (sérica) que ingresa como fluido gingival (IgG, IgM, complemento, polimorfonucleares neutrófilos (PMN)); esta zona recibe el nombre de dominio gingival (fig. 18-1).

Dominio salival

Los factores inmunes inespecíficos están constituidos por: lisozima, sistema lactoperoxidasa y

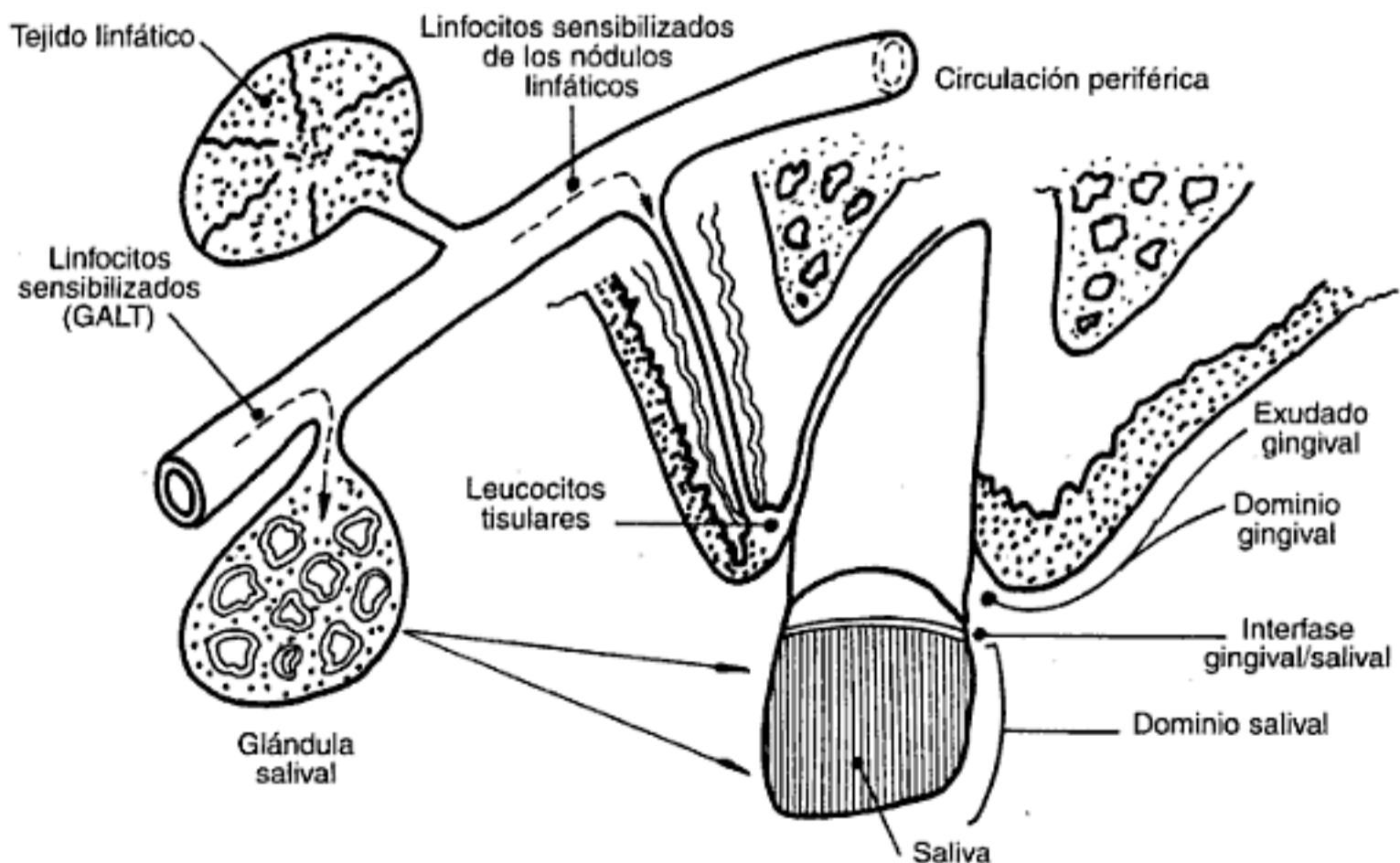


Fig. 18-1. Dominios salival y gingival. Adaptada de Roitt IM y Lehner T. Immunology of oral diseases, 1983.

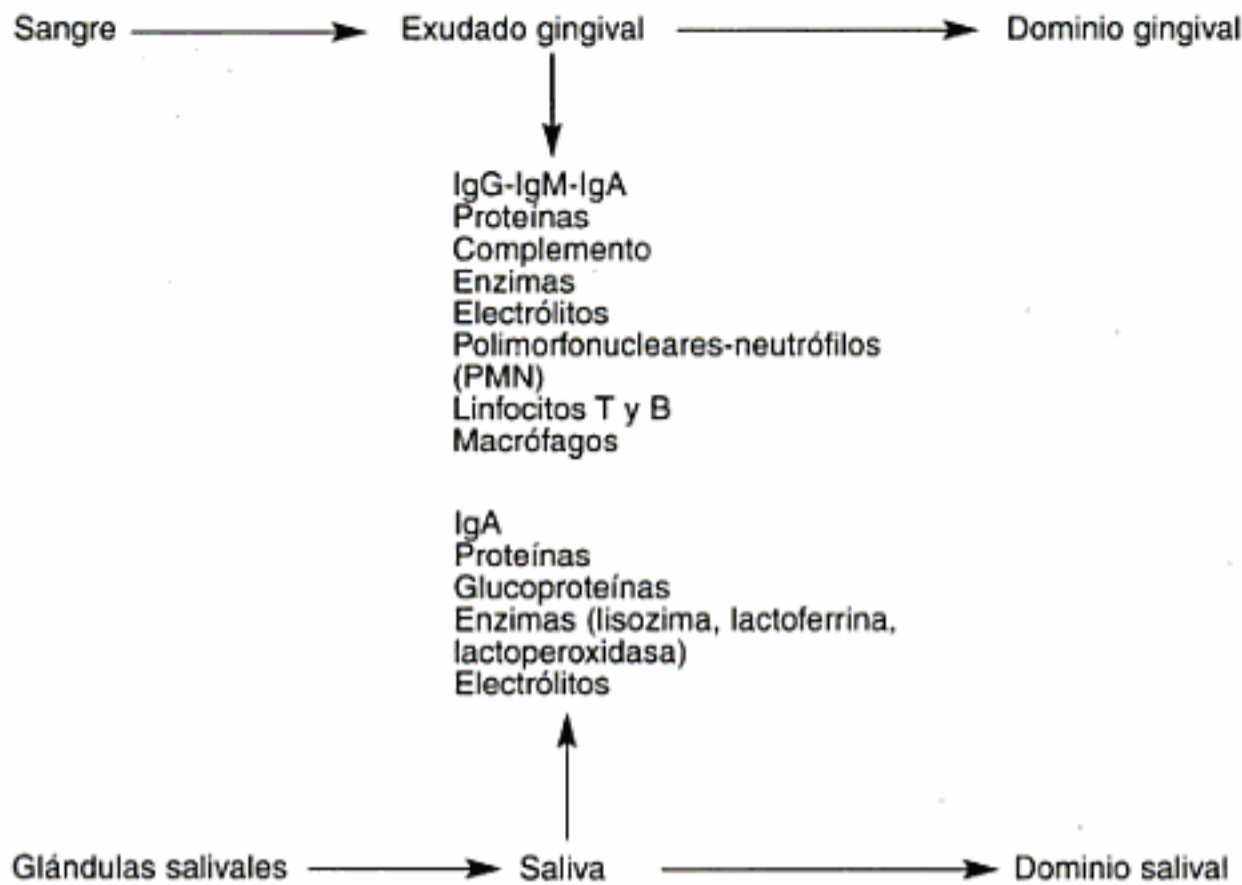


Fig. 18-2. Componentes inmunológicos de los dominios salival y gingival. Adaptada de Brown P y col. Caries, 1991.

lactoferrina y otros componentes que pueden comportarse como aglutininas bacterianas y no están sujetos a una estimulación específica.

Dentro de los componentes de la inmunidad específica, se destaca la IgA, secretada activamente en la saliva en condiciones normales.

Cuando una persona padece algún tipo de enfermedad periodontal, la inflamación en los tejidos periodontales se traducirá en una trasudación de líquido crevicular con proteínas del suero que incluirá IgG, IgA sérica, factores del complemento y fagocitos (fig. 18-2).

La IgA presente en la saliva, cuya composición y subclases se vio (véanse caps. 14 y 15), es sensible a un grupo de enzimas denominadas IgA1 proteasas secretadas por estreptococos del grupo *sanguinis* y por especies de *Capnocytophaga*. Las IgA1 proteasas se comportan como factores de virulencia de estos microorganismos, dividen a la molécula de IgA1 en la región de bisagra de la cadena pesada y la tornan incapaz de llevar a cabo sus funciones antiadherentes contra los microorganismos, que así colonizan las piezas dentarias y las mucosas (fig. 18-3).

Dominio gingival

Complemento: el complemento presente en el exudado del dominio gingival puede activarse por la vía clásica, ante la persistencia de antígenos de la biopelícula dental, o por la vía alternativa

mediante las endotoxinas de los microorganismos gramnegativos, por la cadena J de la inmunoglobulina A o por polisacáridos extracelulares provenientes de la biopelícula supragingival (véanse caps. 14 y 15).

Inmunoglobulinas: hay predominio de IgG sobre IgA, de origen sérico; la IgG1 es la que se encuentra en mayor proporción (véase cap. 15).

Inmunidad mediada por células: hay una elevada proporción de neutrófilos, que representan el 90% de los elementos celulares. El resto está constituido por células mononucleadas, linfocitos B, linfocitos T, macrófagos y células plasmáticas (véase cap. 15).

Otros constituyentes: en las distintas enfermedades periodontales hay mayor o menor cantidad de citocinas, elementos enzimáticos lisosómicos, enzimas bacterianas, endotoxinas, etc. (véanse caps. 14, 15 y 20).

ORIGEN Y DESARROLLO DE LA MICROBIOTA BUCAL

La cavidad bucal del feto en el útero se encuentra libre de gérmenes. A partir del nacimiento dicha cavidad queda expuesta a la microbiota del tracto vaginal materno, donde aparecen microorganismos tales como especies de corinebacterias, lactobacilos, coliformes y cocos anaerobios facultativos, anaerobios estrictos y algunas veces protozoos.

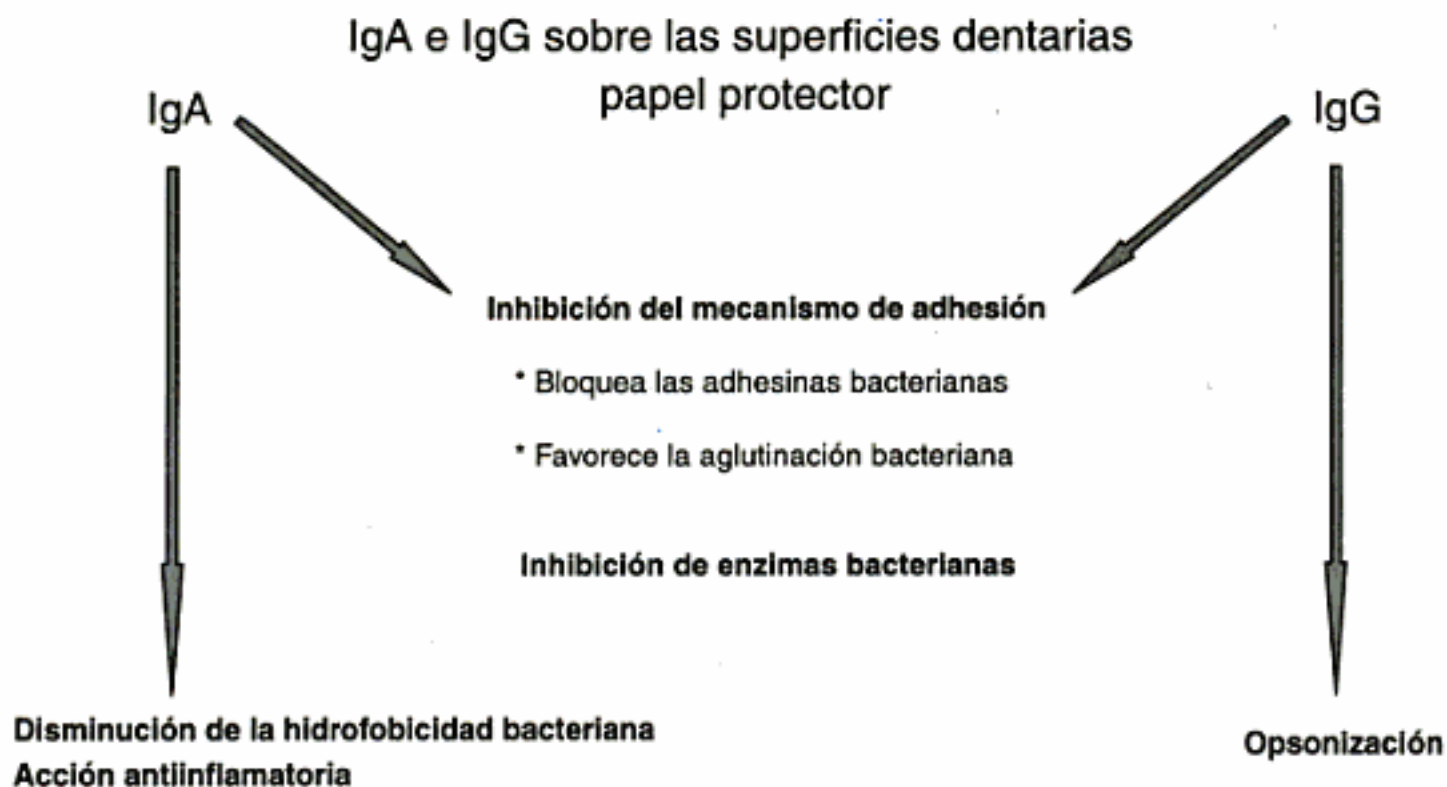


Fig. 18-3. IgA e IgG sobre las superficies dentarias, papel protector. Adaptada de Filian y Bratthall, 1994.

Los microorganismos que colonizan al recién nacido a partir de las ocho horas del alumbramiento constituyen la denominada **comunidad pionera**.

Los primeros en instalarse y los más numerosos son los estreptococos (*Streptococcus grupo salivarius*) en la lengua, las mucosas y libres en la saliva.

Pueden identificarse otros géneros: estafilococos, lactobacilos, neumococos, coliformes, sarcinas, *Neisseria*, *Haemophilus* y *Candida albicans*. El único que suele aparecer de manera constante en número elevado es *S. salivarius*.

La cavidad bucal es selectiva y los microorganismos que ingresan en ella no siempre son capaces de establecerse en nichos ecológicos.

El medio bucal experimenta sus mayores cambios alrededor de los seis meses de vida, momento de la erupción de piezas dentarias primarias (véase cap. 19).

La microbiota presente al completarse la dentición primaria y más tarde la dentición permanente conforma la **comunidad clímax**.

Cuadro 18-1. Factores que influyen en la distribución de la microbiota de la cavidad bucal

Secreción salival	Medicación
Exudado gingival	Dieta
Nutrición y metabolismo microbiano	Potencial de óxido-reducción
Enfermedades sistémicas	Interacciones microbianas
Hábitos: tabaco, alcohol, otros	Trastornos hormonales
Consumo de drogas	

La adquisición de la microbiota bucal normal sigue un desarrollo ecológico específico que se denomina **sucesión ecológica**; se reconocen una sucesión alogénica y otra autogénica.

En la **sucesión alogénica** el desarrollo de la comunidad está influido por **factores no microbianos**, tales como la aparición de las piezas dentarias (fig. 18-4).

Los factores microbianos son responsables de la **sucesión autogénica**.

La calidad y la cantidad de los microorganismos que componen la comunidad clímax varían durante la vida de los individuos de acuerdo con los factores que influyen en su distribución, promoviendo o limitando su desarrollo (cuadros 18-1 y 18-2).

Cuadro 18-2.

<i>Factores que promueven el desarrollo microbiano</i>	<i>Factores que limitan el desarrollo microbiano</i>
Temperatura	Disponibilidad limitada de nutrientes
Humedad	Factores antibacterianos salivales
Potencial redox	pH ↑
pH ↓	Exfoliación de células epiteliales
Nutrientes	Deglución

FACTORES QUE AFECTAN EL DESARROLLO DE LOS MICROORGANISMOS EN LA CAVIDAD BUCAL

FACTORES FÍSICO-QUÍMICOS

Temperatura

La temperatura de la cavidad bucal es más baja que la temperatura normal del cuerpo (oscila entre 35 y 36 °C). Esta temperatura resulta óptima para el desarrollo de un amplio espectro de microorganismos (véase cap. 6).

Los factores que pueden ser influidos por la temperatura incluyen pH, actividad iónica, solubilidad de los gases y agregación de macromoléculas.

Potencial de óxido-reducción (Eh)

La cavidad bucal es rica en oxígeno y puede ser colonizada por una variedad de microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y aun anaerobios si no hubiera O₂.

Los niveles de óxido-reducción suelen ser expresados como potencial redox (Eh). Se han demostrado potenciales de óxido-reducción de +30 a 310 mv para la lengua, la saliva y la encía adherente y otros tan bajos como -200 para la biopelícula coronaria y -360 mv para el área del surco gingival.

En la cavidad bucal y especialmente en la biopelícula dental hay diversos gradientes de concentración de O₂ y Eh. Los microorganismos con gran capacidad de tolerancia al oxígeno pueden sobrevivir en el biofilm durante más tiempo (cuadro 18-1).

Concentración de hidrogeniones (pH)

La mayoría de los microorganismos presentes en la cavidad bucal requieren un pH cercano a la neutralidad. El pH está regulado por la saliva. El pH salival normal oscila entre 6,5 y 7. Los niveles de acidez de la biopelícula dental pueden diferir

notablemente y dependen de la cantidad de ácido producido por los microorganismos presentes en cada sector del biofilm.

Las bacterias que producen cantidades importantes de ácido como los *S. mutans* y *Lactobacillus spp.* se conocen como **acidogénicas** (véase cap 19).

Dióxido de carbono

El crecimiento y el desarrollo de numerosos microorganismos depende de la presencia de dióxido de carbono; para muchas especies la concentración necesaria es de alrededor del 0,03%.

Algunos gérmenes, como *Aggregatibacter* (ex *Actinobacillus*) y *Capnocytophaga*, dependen del CO₂ para llevar a cabo sus procesos metabólicos.

Nutrientes

Los nutrientes pueden ser **endógenos o exógenos** (véase cap. 6).

Nutrientes exógenos

Hidratos de carbono

Los carbohidratos exógenos son los que tienen importancia ecológica en la cavidad bucal; son utilizados por los microorganismos de la placa cariogénica para producir energía, conformar la matriz de la placa y generar un medio ácido que actúa como factor limitante, porque permite el desarrollo de microorganismos acidógenos y acidúricos, como los estreptococos y los lactobacilos (véase cap. 19).

Degradación de aminoácidos

Algunas bacterias originan amoníaco a partir de la arginina, cadaverina a partir de la lisina o histamina a partir de la histidina, originan compuestos que pueden ser utilizados como fuente de nitrógeno por otros microorganismos.

Algunas de las aminas y el amoníaco resultantes pueden ser dañinos para los tejidos del hospedador.

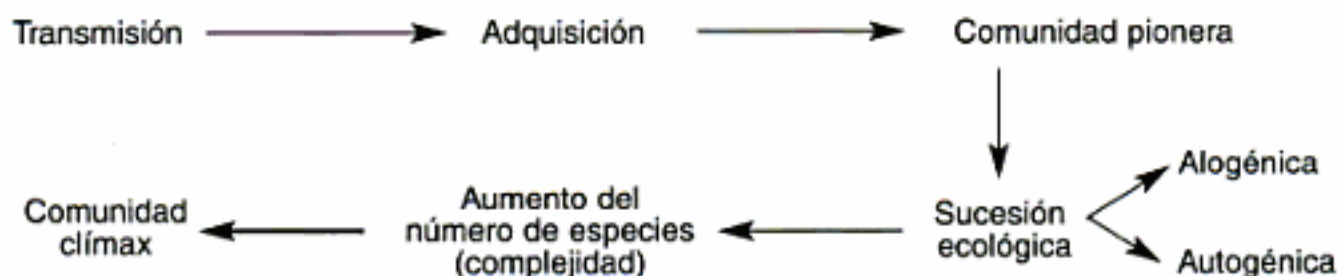


Fig. 18-4. Estadios en el establecimiento de la comunidad microbiana.

Cuadro 18-3. *Proteínas salivales*

Proteínas salivales mayores	IgA	Antiadherente , inmunidad local
	PRPs y glucoproteínas	Lubricación, fijan Ca ⁺⁺ , remineralización , agregación bacteriana
	Mucinas	Lubricación . Protegen contra la desecación y la abrasión
	Alfa amilasa	En la película adquirida del esmalte, adhesión inicial al fijar <i>St. grupo sanguinis</i>
Proteínas salivales menores	Cistatinas	Se combinan con las mucinas. Inhiben las proteasas. Interaccionan en el proceso de desmineralización/remineralización. Antimicrobianas
	Aglutininas	Antimicrobianas . Permiten la agregación interbacteriana
	Fibronectina	Inhibe la colonización epitelial de bacterias gramnegativas
	Peroxidasa	Antimicrobiana , con capacidad enzimática
	Lisozima	Antimicrobiana . Hidroliza los polisacáridos de la pared celular de las bacterias grampositivas
	Anhidrasas Carbónicas	Contribuyen a la capacidad tampón , producen hidratación reversible del anhídrido carbónico
	Lactoferrina	Bactericida , se comporta como análogo para los receptores bacterianos Antiadherente , se une a aglutininas. Interfiere con el desarrollo de la biopelícula
Apolactoferrina	Antimicrobiana . Permite mantener a <i>S. mutans</i> en bajas concentraciones en la saliva	
Péptidos salivales	Histatina	Antimicrobiana , amplio espectro. Inhiben la precipitación de sales de calcio
	Defensinas	Antimicrobianas . Defensinas alfa: en el fluido crevicular Defensinas beta 1: se expresan en el epitelio y se relacionan con las mucinas
	Catelicinas	Antimicrobianas de amplio espectro. Al relacionarse con histatinas y PRPs, pueden comportarse como un antibiótico natural

Nutrientes endógenos

Fluido gingival

El fluido gingival o crevicular es un derivado del suero que se encuentra en el surco gingival. En él se detectan albúmina, glucoproteínas, lipoproteínas, hemina M, alfa2-globulina, sodio, potasio, calcio, magnesio y fosfatos inorgánicos. Algunos de estos elementos, como la hemina y la alfa2-globulina, son imprescindibles para el desarrollo de las bacterias del biofilm subgingival (*Porphyromonas*, *Prevotella*, treponemas).

En presencia de cuadros inflamatorios aumenta la cantidad de fluido gingival. Este fluido gingival posee hasta treinta veces más proteínas que el

suero y elementos plasmáticos celulares, como neutrófilos polimorfonucleares y enzimas proteolíticas. También aparecen productos bacterianos (endotoxinas) y de degradación del sistema inmune del hospedador (véase cap. 20).

Nutrientes provenientes de interacciones bacterianas

Algunas bacterias, denominadas **primeros consumidores**, utilizan únicamente los productos disponibles; elaboran como fruto de su metabolismo sustancias que otras bacterias aprovechan y por eso a éstas se las denomina **consumidores secundarios**.

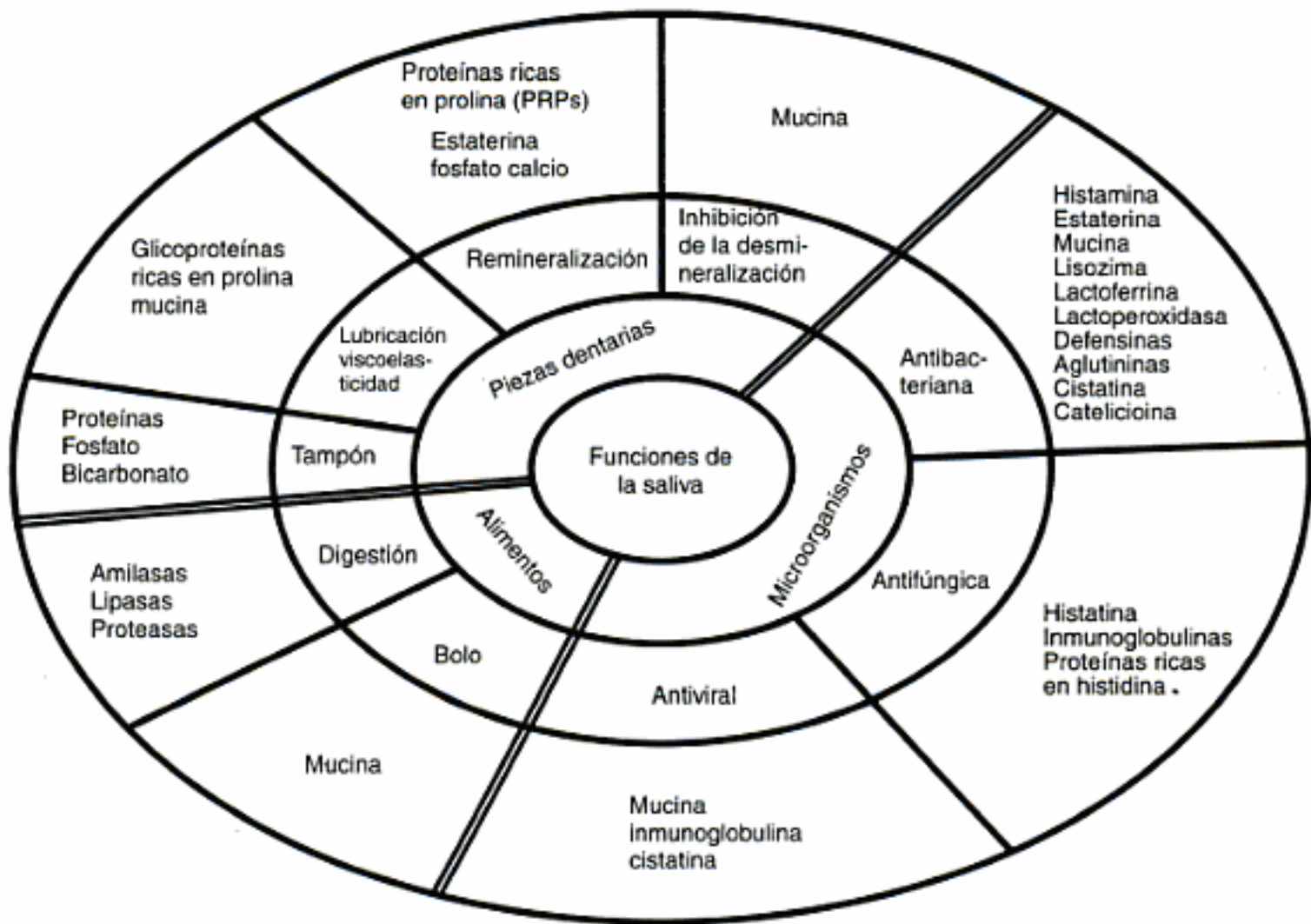


Fig. 18-5. Funciones de la saliva en relación con sus constituyentes. Adaptada de Nieuw Amerongen et al, 2004.

LA SALIVA

La saliva es considerada como un sistema con factores múltiples que actúan en conjunto e influyen en el estado de salud / enfermedad de la cavidad bucal.

El volumen de saliva segregado por una persona varía entre 700 y 800 mL diarios con un promedio de 0,3 mL por minuto.

Se hace necesario detallar su composición, el papel que cumplen cada uno de sus componentes y sus funciones para poder relacionarla con el mantenimiento del equilibrio de los ecosistemas bucales, lo cual es fundamental para el control de las enfermedades más prevalentes de la cavidad bucal, la caries dental y las enfermedades periodontales (cuadro 18-3) (fig. 18-5).

Composición

La composición de la saliva está relacionada con el flujo y su característica serosa, mucosa o mixta, de acuerdo con su origen glandular, pero además se ve influenciada por múltiples factores relacionados con el estilo de vida, el estado de salud / enfermedad y la administración de determinadas medicaciones (fig. 18-5).

Todos los factores son tenidos en cuenta en el momento de establecer el nivel de riesgo que posee el hospedador para padecer caries dental o enfermedades periodontales.

La presencia de determinadas proteínas y péptidos salivales contribuye al mantenimiento del equilibrio de la microbiota bucal (cuadro 18-3).

Funciones

La saliva cumple con distintas funciones, las que pueden ser resumidas en: 1) función digestiva, 2) función protectora de los tejidos bucales y 3) funciones relacionadas con el desarrollo de caries dental.

Las funciones de la saliva relacionadas con la caries dental pueden resumirse en:

- la formación de la película salival adquirida y agregación salival (véase cap. 19);
- la capacidad tampón;
- la dilución y la eliminación de los azúcares;
- el equilibrio entre los procesos de desmineralización y remineralización;
- la acción antimicrobiana (véanse cuadro 18-3 y figs. 18-3 y 18-5).

FACTORES DETERMINANTES DE LA COMPOSICIÓN MICROBIANA EN LOS DISTINTOS NICHOS ECOLÓGICOS

Cada superficie dentaria, cada unión dentogingival, constituye un nicho ecológico diferente. En cada uno hay elementos del sistema inmune específico e inespecífico que modulan el accionar de los microorganismos allí presentes (véase cap. 14). Asimismo, las bacterias grampositivas y gramnegativas utilizan mecanismos propios del "quorum sensing" para regular sus actividades fisiológicas (véase cap. 19).

En el medio aparecen moléculas, denominadas **autoinductoras**, que regulan la expresión de genes y aumentan en relación directa con la concentración y la función de la población microbiana que ocupa determinado nicho ecológico. La comunicación por autoinductores ocurre tanto

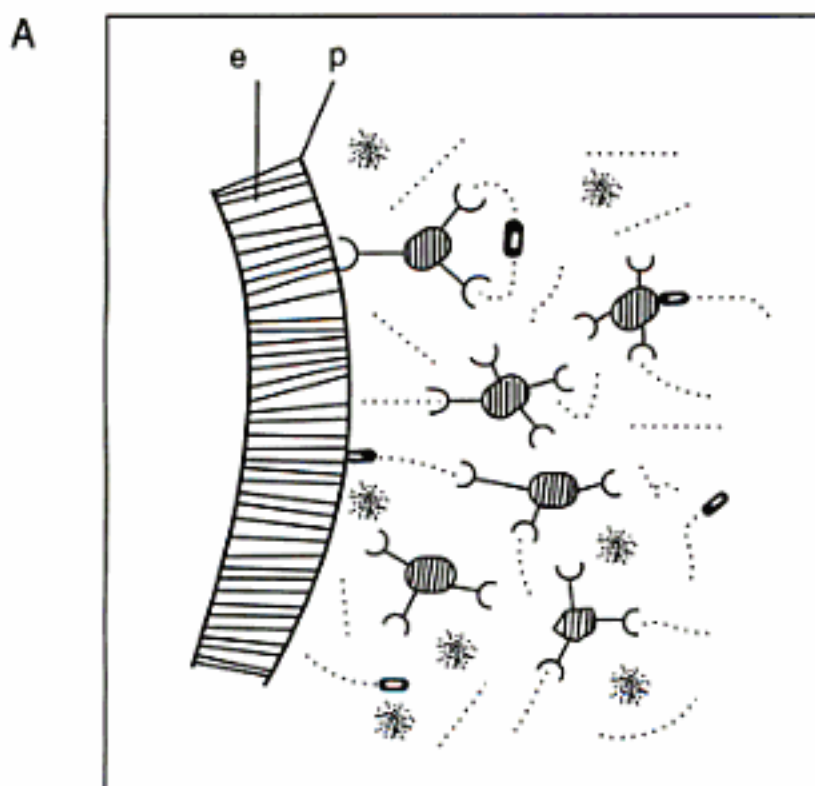
entre bacterias de la misma especie como entre especies diferentes.

La composición microbiana de cada nicho ecológico depende entonces de la capacidad de los microorganismos para cumplir con tres etapas: **adherencia, desarrollo y supervivencia.**

Adherencia microbiana

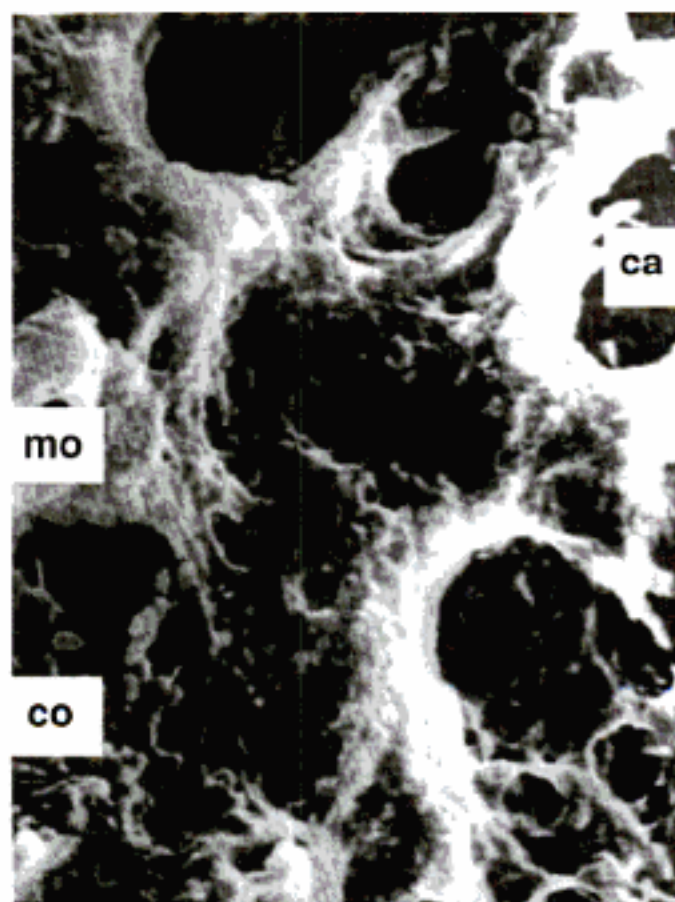
Sólo los microorganismos que pueden adherirse y permanecer en la cavidad bucal tienen la oportunidad de comenzar a crecer, multiplicarse, sobrevivir y establecerse como miembros de la microbiota bucal; gran parte de los microorganismos que ingresan se eliminan y sólo un pequeño porcentaje puede adherirse y persistir.

La adhesión consiste en un fenómeno de interrelación que se establece entre los microorganismos y los tejidos del hospedador.



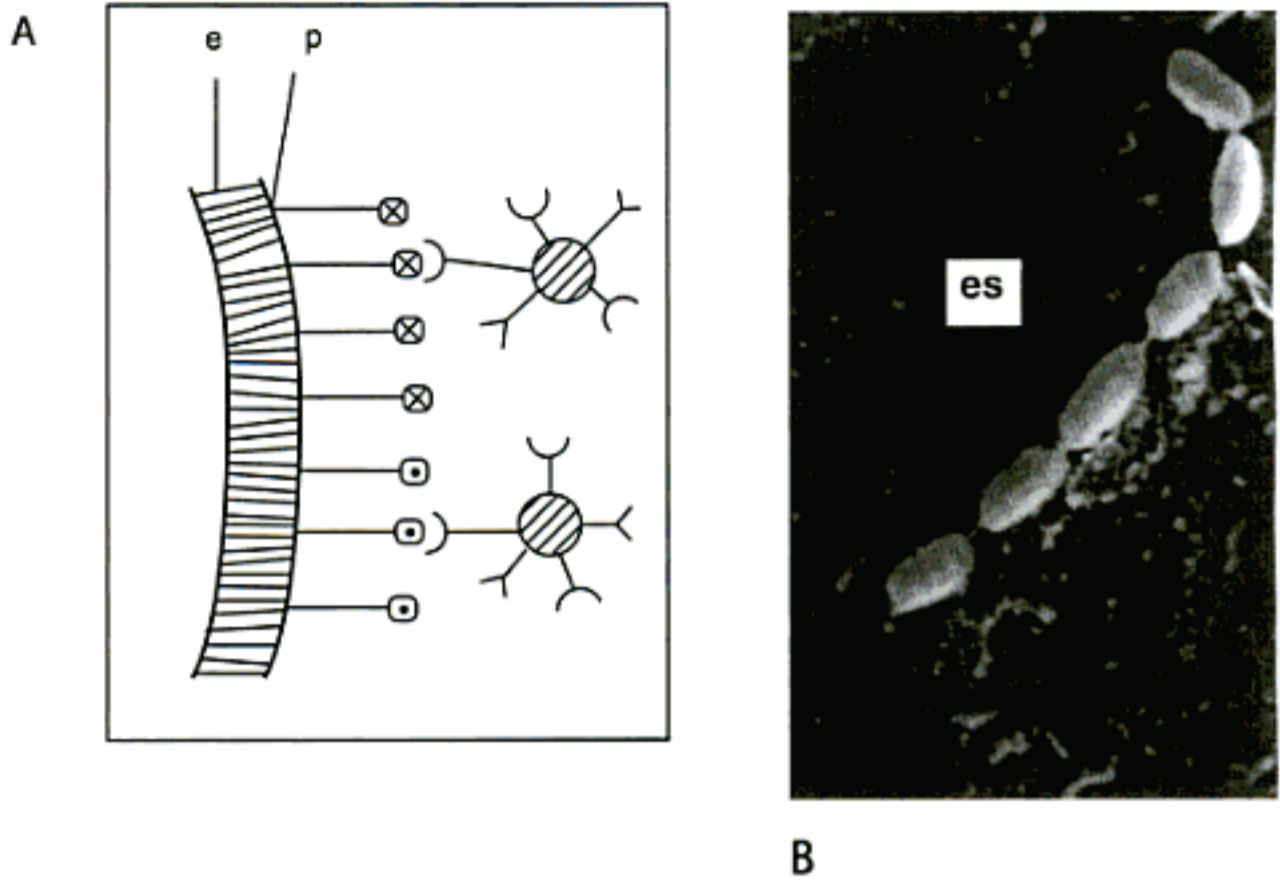
Referencias

p	—	1
e	—	2
●	—	3
⌋	—	4
○	—	5
.....	—	6
✱	—	7



B

Fig. 18-6. Adhesión por polisacáridos extracelulares. **A.** Esquema de los constituyentes del proceso de adhesión. 1. Película adquirida. 2. Esmalte. 3. Cocos. 4. Lectinas (proteínas de la pared celular). 5. Glucosiltransferasas. 6. Mutanos. 7. Dextranos. **B.** Microscopia electrónica de barrido (MEB) 3.000. Adhesión in vitro de *S. mutans* (cultivo en medio base para dextrano). co = cocos. mo = matriz orgánica, ca = cavernas.



Referencias

e	—	1
P	—	2
⊗	—	3
⊙	—	4
⌋	—	5
⌋	—	6
⊙	—	7

Fig. 18-7. Adhesión por unión lectina-carbohidrato y proteína-proteína. **A.** Esquema de los constituyentes del proceso de adhesión. 1. Esmalte. 2. Película adquirida. 3. Residuos glucosídicos. 4. Residuos proteicos. 5. Lectinas (proteínas de la pared celular). 6. Fimbrias. 7. Cocos. **B.** Microscopia electrónica de barrido (MEB) × 10.000. Adhesión in vitro de *S. mutans* (cultivo en medio base para dextrano). es = esmalte.

El principal mecanismo de adherencia de las bacterias gramnegativas y de muchas grampositivas consiste en la interacción específica entre dos moléculas, una bacteriana o “adhesina” y otra del tejido del hospedador denominada “receptor”.

El paso previo a la adhesión de los microorganismos al diente implica la interacción entre las adhesinas bacterianas y las macromoléculas que constituyen la película adquirida. Este mecanismo puede fijar microorganismos a material artificial biocompatible o a las propias bacterias; esto da lugar a los siguientes fenómenos de agregación y coagregación bacterianas (véase cap. 19).

Las adhesinas más conocidas son enzimas del tipo glucosiltransferasas (GTF), glucanos solubles e insolubles, residuos de carbohidratos y proteínas superficiales de la pared celular (lectinas), proteínas que se fijan a la película adquirida, proteínas contenidas en las fimbrias, ácidos lipoteicoicos y el complejo formado por ácido lipoteicoico y proteínas de las fimbrias.

Los mecanismos de adherencia microbiana más reconocidos son:

1. Adhesión por ácido lipoteicoico.
2. Adhesión por polisacáridos extracelulares.
3. Adhesión por unión lectina-carbohidrato.
4. Adhesión por unión proteína-proteína.
5. Retención por atrape físico.

Adhesión por ácido lipoteicoico

Este ácido que es un polímero aniónico, compuesto por fosfatos azucarados, generalmente glicerol y ribitol fosfato, deriva de la membrana plasmática y penetra en la pared celular de los estreptococos grampositivos. De este modo, el microorganismo se presenta con una potente carga electronegativa que le permite adherirse al ion calcio de la saliva y a través de éste, que actúa como puente, a la película acelular adquirida.

Este mecanismo es el que utiliza *S. sanguinis* cuando no hay sacarosa en el medio; origina un biofilm con bajo potencial acidogénico y no cariogénico.

Adhesión por polisacáridos extracelulares

En este proceso intervienen glucanos insolubles (mutanos) y proteínas superficiales que fijan glucanos y glucosiltransferasas (fig. 18-6); un ejemplo es *Streptococcus mutans* (véase cap. 19).

Adhesión por unión lectina-carbohidrato

Las lectinas son péptidos de proteínas que reconocen residuos de glúcidos y se fijan a ellos. Estas uniones se producen en la película acelular adquirida (porción glucosídica) mediante las fimbrias y las proteínas de superficie de algunos microorganismos. Así, en la película adquirida se ven residuos de galactosa como receptores para antígenos superficiales (proteínas) presentes en *S. mutans*; mientras que los residuos de ácido siálico son receptores para *S. sanguinis* (fig. 18-7).

Este tipo de unión se da también en los casos de coagregación bacteriana en los que las fimbrias tipo 2 de *Actinomyces viscosus* interactúan con residuos de galactosa de *S. sanguinis*.

Adhesión por unión proteína-proteína

Los análisis electroforéticos han demostrado que las proteínas salivales que primero promueven la adhesión son las ricas en prolina (PRP), seguidas por las que contienen la proteína estaterina.

Actinomyces viscosus se une a las PRP de la película acelular mediante sus fimbrias tipo 1, se comportan como adhesinas y también favorecen los fenómenos de coagregación. Esta coagregación puede ser específica para distintas bacterias. Así formas filamentosas grampositivas se coagregan a formas cocoides grampositivas u otras gramnegativas. De esta forma, a *Actinomyces viscosus* y *A. naeslundii* se le agregan *Veillonella*, *S. sanguinis* y/o *S. mitis* o *gordonii*, conformando las imágenes de mazorca de maíz (corn-cob).

Otro tipo de adhesión da como resultado agrupaciones denominadas "en cepillo", presentes en la placa subgingival. En este caso a un bacilo central (gramnegativo) se le adosan perpendicularmente otras bacterias con la misma morfología (p. ej., *Prevotella intermedia* con *Fusobacterium nucleatum*).

Retención por atrape físico

Muchos microorganismos de la cavidad bucal quedan simplemente retenidos en fosas y fisuras

dentarias, en el surco gingival o en bolsas periodontales e incluso dentro de la matriz de la biopelícula. Así, los estreptococos se acantonan en fosas y fisuras mientras que los treponemas, los vibrios y *Porphyromonas* se encuentran predominantemente en el surco gingival.

Receptores

Los receptores de los tejidos son reconocidos por las adhesinas de los microorganismos que colonizan las mucosas o el tejido dentario. Los componentes de la saliva se adhieren a las bacterias, causan agregación y así facilitan su eliminación.

En la saliva y el fluido gingival de los pacientes con enfermedad periodontal mala higiene bucal se detectan niveles elevados de proteasas, como tripsina y colagenasas, y varias glucosidasas del tipo neuraminidasa. Estas enzimas derivan de células inflamatorias asociadas con la alteración gingival y con la persistencia de la biopelícula.

Los altos niveles de proteasas favorecen la remoción de la fibronectina de las superficies de las células epiteliales y así los receptores quedan expuestos a los microorganismos autóctonos asociados con las enfermedades periodontales y a aquellos que llegan por vía exógena, como por ejemplo *Pseudomonas aeruginosa*, que se establece en el lugar en el que *S. sanguinis* se adhiere naturalmente. Enzimas como la tripsina generan nuevos receptores que promueven la adhesión de *Porphyromonas gingivalis* a los tejidos del hospedador.

En forma similar, la neuraminidasa remueve los residuos terminales del ácido siálico y expone residuos de galactosil que funcionan como un nuevo receptor, el que interactúa con la adhesina galactosil de *Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella intermedia*.

Las cepas de *Porphyromonas gingivalis* tienen afinidad por los receptores del colágeno. Por lo tanto, es factible que esta propiedad desempeñe una función importante al facilitar la invasión de *P. gingivalis* a través de las membranas basales y su posterior penetración en el tejido conectivo gingival.

La afinidad de varios estreptococos cariogénicos, en particular *S. rattus* y *S. cricetus*, por el colágeno facilita la penetración bacteriana en el cemento y la dentina, y así promueve el avance de la caries dental (véase cap. 19).

Desarrollo y supervivencia

La microbiota bucal está compuesta por microorganismos que se desarrollan y sobreviven en la cavidad bucal.

La supervivencia depende de la regulación dada por los determinantes ecológicos anteriormente mencionados.

Las biopelículas y su potencial patogénico

En 1987 Costerton definió la biopelícula como “una comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un sustrato o superficie, o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o la expresión de sus genes” (véase cap. 19).

Características generales de las biopelículas

- Están conformadas por comunidades microbianas, donde participan distintos géneros y especies bacterianas.
- Los microorganismos forman microcolonias, cuya arquitectura semeja torres o setas.
- Los microorganismos que la constituyen están contenidos en una matriz formada principalmente por polisacáridos extracelulares.
- Los canales que atraviesan la estructura de la biopelícula favorecen el flujo de nutrientes, productos de excreción, enzimas, metabolitos y oxígeno.
- Los microorganismos se comunican entre sí por señales químicas, a partir de las cuales se activan mecanismos para producir nuevas proteínas y enzimas. Se expresan genes que dan lugar a cambios fenotípicos en la comunidad (véase cap. 19).
- Los microorganismos incluidos en ellas son menos sensibles a la acción de antisépticos, antibióticos y a fagocitosis.

Relación de la biopelícula con la etiopatogenia de caries dental y enfermedad periodontal

La biopelícula de placa dental ha sido propuesta como el agente etiológico principal en el desarrollo de la caries dental y las enfermedades periodontales (véanse caps. 19 y 20).

Hipótesis sobre la formación de la biopelícula

Hipótesis no específica

Esta teoría le da más importancia a la cantidad de microorganismos y no considera los distintos grados de virulencia que pueden poseer.

Hipótesis específica

De acuerdo con la hipótesis específica, la caries dental y las enfermedades periodontales se consideran problemas microecológicos iniciados por poblaciones selectivas de microorganismos sobre superficies específicas; no todas las placas o biopelículas causan enfermedad. Una biopelícula con predominio de microorganismos grampositivos, acidogénicos y acidúricos está relacionada con la etiología de caries dental mientras que otra, donde haya mayor proporción de microorganismos proteolíticos y gramnegativos, es considerada una placa periodontopatogénica.

Hipótesis ecológica

Esta hipótesis, propuesta por Marsh en 1997, postula que el balance entre las condiciones que brinda el hospedador con los microorganismos de la cavidad bucal y aquellos que constituyen la biopelícula condiciona la aparición de la enfermedad; los microorganismos se van regulando unos a otros (fig. 18-8).

El proceso de regulación en la biopelícula es dinámico, donde las condiciones externas van a producir alteraciones en la expresión de los genes requeridos para su formación, conlleva a la modificación del microambiente por sus propios habitantes, los que sufren alteraciones genéticas adicionales que le otorgan mayor o menor grado de virulencia y patogenicidad (véanse caps. 19 y 20).

GÉNEROS Y ESPECIES MICROBIANAS PRESENTES EN LA CAVIDAD BUCAL SU DISTRIBUCIÓN

La mayor parte de los microorganismos de la cavidad bucal son cocos y bacilos grampositivos y gramnegativos, aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, según el nicho ecológico que los albergue.

Alrededor del 50% de la biota de la cavidad bucal no es aislada en medios de cultivo. Actualmente, las comparaciones filogenéticas, a partir del reconocimiento de los genes que codifican para el rRNA 16S permiten reconocer más de setecientas especies de microorganismos o filotipos en la cavidad bucal; continuamente se describen nuevos géneros y especies, mientras otros se reclasifican.

1. Bacterias tradicionalmente definidas como gramnegativas

En la actualidad se encuentran reubicadas en cinco *phylum* con sus respectivos géneros y especies. Sólo se describen aquellas con mayor representatividad en la cavidad bucal (cuadro 18-4).

1.1. Phylum Bacteroidetes

Bacteroidetes es un *phylum* de bacterias con amplia distribución en el medio ambiente. En cavidad bucal se los relaciona con el biofilm de placa subgingival en las distintas enfermedades periodontales y en conductos radiculares infectados (véase cap. 20).

Se incluyen los géneros:

- *Bacteroides*: *Bacteroides oulorum* y *B. heparinolyticus*

Bacteroides zoogloformans: se los ha encontrado en la biopelícula supragingival.

- *Capnocytophaga*: *Capnocytophaga ochracea*, *C. gingivalis* y *C. sputigena*. Posiblemente tienen papel en la periodontitis crónicas y agresivas.

- *Porphyromonas*: *Porphyromonas gingivalis*, la más importante del género, predomina en bolsas periodontales. *Porphyromonas endodontalis* se ha aislado también de caries de dentina.

En condiciones de salud las distintas especies de *Porphyromonas* pueden ubicarse, en bajo número, en la lengua, en las amígdalas e incluso en la saliva.

- *Prevotella*: El hábitat primario de *Prevotella* es el surco gingival. En la cavidad bucal se encuentran los siguientes géneros: *Prevotella marshii*, *P. intermedia/nigrescens*, *P. oris*, *P. oulorum*, *P. veroralis* *P. buccae* y *P. baroniae*.

- *Tannerella*: El género representativo es *Tannerella forsythia*.

Porphyromonas, *Prevotella* y *Tannerella*: surgen de una reclasificación del género *Bacteroides*, están relacionados con la progresión de las enfermedades periodontales y las infecciones sinérgicas de los conductos radiculares infectados y abscesos periapicales (véase cap. 20, 1° parte y 4° parte).

Dentro del *phylum Bacteroidetes* también se han descrito miembros de la familia *Flavobacteriaceae* presentes en la progresión de caries dental.

1.2. Phylum Spirochaetes

Género *Treponema*. Las especies más representativas son:

Treponema denticola, *T. vincentii*, *T. medium*, *T. parvum*, *T. pectinovorum*, *T. socranskii*, *T. lecithinolyticum*, *T. amylovorum*, *T. malthophilum*.

Forman parte de la microbiota comensal; se las encuentra en alto número en sitios con patología periodontal y en conductos radiculares infectados (véase cap. 23-5).

Las infecciones producidas por estos microorganismos son sinérgicas; en ellas los treponemas se comportan como invasores secundarios (véase cap. 20).

Todos estos treponemas necesitan suero para su desarrollo y obtienen energía del metabolismo de los aminoácidos.

1.3. Phylum Synergistes

Los géneros representativos de cavidad bucal son *Synergistes* y *Desulfovibrio*. Recientemente se han aislado, de bolsas periodontales, lesiones de caries en humanos. Con metodología molecular, es común encontrar estas bacterias en abscesos dentoalveolares.

1.4. Phylum Proteobacterias

Las proteobacterias filogenéticamente se agrupan en cinco grupos designados como subdivisiones o clases y son nombradas por las letras del

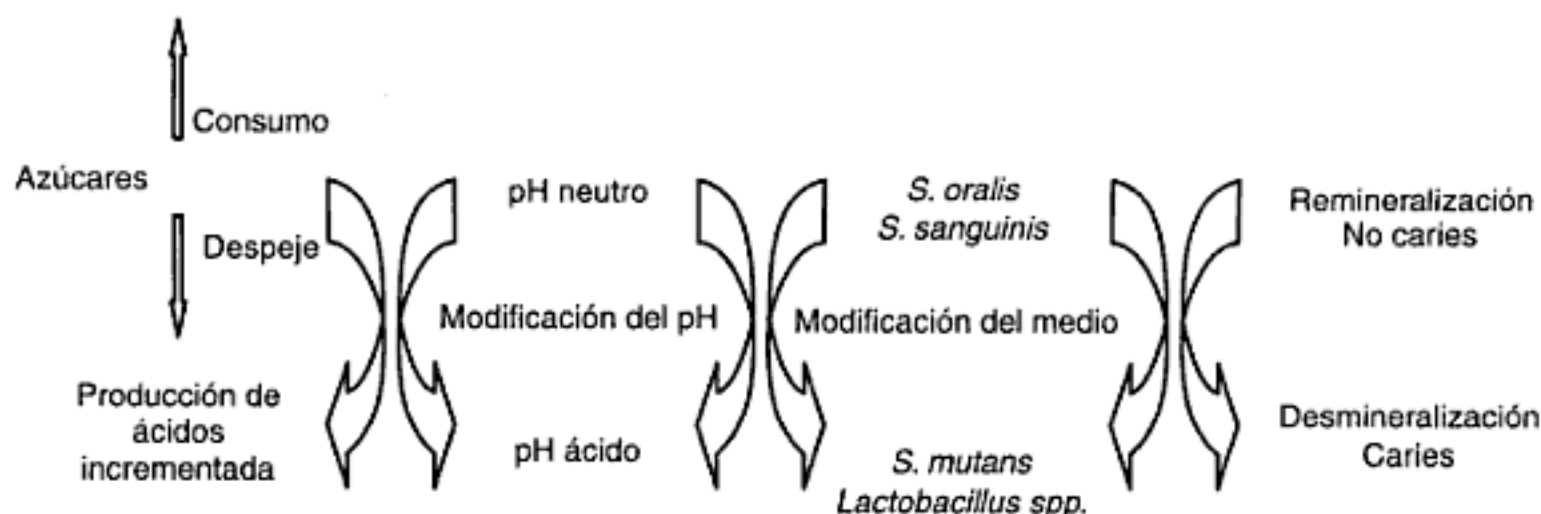


Fig. 18-8. Hipótesis de placa ecológica. Adaptado de Marsh. 1994.

alfabeto griego: alfa, beta, gamma, delta y épsilon. Los subgrupos alfa y beta son los más cercanos entre sí.

Proteobacterias alfa: en cavidad bucal se ha aislado el género *Desulfobulbus* en relación con enfermedad periodontal. Son bacterias que reducen los grupos sulfato.

Proteobacterias beta: dentro de esta clase se encuentra la familia *Neisseriaceae* con sus géneros *Neisseria*, *Eikenella* y *Kingella* (véase cap. 23-2).

- *Neisseria*: se ubican en los labios, la lengua, las mejillas, la biopelícula de placa dental y la saliva. Las especies predominantes son *Neisseria sicca*, *N. mucosa* y *N. subflava*. Se considera que al consumir oxígeno proveen las condiciones que favorecen el desarrollo de los microorganismos anaerobios.
- *Eikenella*: la especie más representativa es *Eikenella corrodens*; aislada, también, del tracto respiratorio superior como parte de la microbiota normal.
- *Kingella*: *Kingella oralis* fue distinguida de *E. corrodens* bioquímicamente y por hibridación del DNA/DNA.

Proteobacterias gamma. Los géneros *Aggregatibacter* (ex *Actinobacillus*) y *Haemophilus* son de interés.

- *Aggregatibacter*: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (serotipos a-e), anterior denominación: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Puede encontrarse en bajo número en las mucosas de la cavidad bucal en adultos y en niños con salud periodontal. Algunas cepas de *A. actinomycetemcomitans*. Se las involucra con las enfermedades periodontales destructivas, por la capacidad de producir leucotoxina extracelular activa frente a PMN (véase cap. 20).
- *Aggregatibacter aphrophilus*, *Aggregatibacter paraphrophilus* y *Aggregatibacter segnis* (anteriormente descritos dentro del género *Haemophilus*) forman parte de la biopelícula dental subgingival, los tejidos blandos y la saliva.
- *Haemophilus*: la especie representativa es *Haemophilus parainfluenzae*.

Aunque se los ha aislado en la infancia, en general son patógenos oportunistas; se los encuentra asociados con casos de infección mandibular, otitis media, sialoadenitis y endocarditis infecciosa.

Proteobacterias delta: Se han aislado en sitios con enfermedad periodontal: *Desulfovibrio piger*, *D. fairfieldensis*, *D. desulfuricans* y *D. bulgaris*. Géneros estrictamente anaerobios reductores de sulfato.

Proteobacterias épsilon: comprenden los géneros *Wolinella*, *Helicobacter* y *Campylobacter*. Todos son móviles.

- *Wolinella*: fueron clasificados como *Vibrio succinogenes* y han sido redesignados como *Wollinella succinogenes*. Se los relaciona con enfermedad periodontal, abscesos de origen dentario y periodontal, y canales radiculares infectados.
- *Helicobacter*: el *Helicobacter pylori* se encuentra en las secreciones bucales y fue aislado de la biopelícula dental y en bajo número en las mucosas, en la cavidad bucal del adulto y en niños con salud periodontal. Se aloja en la mucosa gástrica humana, se asocia con la etiología de la úlcera péptica. Sus mecanismos de patogenicidad se basan en la presencia de adhesinas, ureasa, flagelos y la producción de una citotoxina vacuolante. Sobrevive en presencia de alto tenor de urea en las bolsas periodontales profundas al ser productor de ureasa.
- *Campylobacter*: entre las especies de mayor importancia odontológica, *Campylobacter rectus* (ex *Wolinella recta*) se aísla del surco gingival, de bolsas periodontales y de los canales radiculares.

Se ha identificado una nueva especie anaerobia denominada *Campylobacter showae* y se ha reclasificado el anteriormente denominado *Vibrio sputorum* como *Campylobacter sputorum*, única especie anaerobia facultativa.

Otras especies de interés son *C. gracilis*, *C. curvus*.

1.5. Phylum Chlamidia

El género descrito como perteneciente a cavidad bucal es *Chlamidophila*. Éste es un grupo de bacterias cuyos miembros son endosimbiontes o patógenos intracelulares obligados de células eucariotas.

2. Bacterias de la cavidad bucal descritas tradicionalmente como grampositivas

Estas bacterias se reagruparon en cinco phylum, a saber:

2.1. Phylum Firmicutes

Microorganismos grampositivos con contenido bajo de G +C (cuadro 18-4).

El *phylum Firmicutes* predomina en las biopelículas de la cavidad bucal, tanto en salud como en enfermedad.

Los microorganismos de mayor interés en la etiopatología de caries dental y enfermedades periodontales pertenecientes a la clase *Bacilli* (aerobios) y a la clase *Clostridia* (anaerobios).

2.1.1. Clase Bacilli:

Familia Bacillales

- *Filifactor*: el género *Filifactor* surge de un desdoblamiento del género *Fusobacterium*, el más representativo es *Filifactor alocis*; es un bacilo, relacionado con periodontitis crónica y con conductos radiculares infectados.
- *Staphylococcus*: el género posee muchas especies patógenas, en condiciones de salud no suelen encontrarse en la cavidad bucal. Se comporta como biota transeúnte. La especie más representativa, *Staphylococcus aureus*, puede estar asociada a infecciones endodónticas, periodontales, periapicales e infecciones supurativas de las glándulas salivales, debajo de prótesis y en pacientes inmunocomprometidos. Se ha aislado principalmente de saliva, y de la biopelícula supra y subgingival al igual que la otra especie, *Staphylococcus epidermidis* (véase cap. 23-2).
- *Stomatococcus*: el género representativo, *Stomatococcus mucilaginosus* recientemente se ha reclasificado como *Rothia mucilaginosa* (véase *Rothia*).

Familia Lactobacillales

- *Streptococcus*: los estreptococos constituyen el grupo más numeroso en la cavidad bucal (características generales, véase cap. 23-1). La mayoría de los estreptococos de la cavidad bucal: *Streptococcus de los grupos salivarius, mutans, anginosus sanguinis y mitis* son considerados alfa-hemolíticos.
- *Streptococcus faecalis*, reclasificado como *Enterococcus faecalis*, es considerado no hemolítico.
- *Streptococcus pyogenes*, beta-hemolíticos, no se consideran miembros de la biota normal de la cavidad bucal (véase cap. 23-1).

Streptococcus del grupo mutans

Estas especies han sido descritas por Clarke en 1924, a partir de caries de dentina. Su primer hábi-

tat es la superficie dentaria del hombre, pero también pueden ser identificados en fauces. Su presencia en la biopelícula dental se ve favorecida por el alto nivel de sacarosa de la dieta (véase cap. 19).

Los estreptococos del grupo *mutans* son genéticamente heterogéneos y pueden ser subdivididos en distintos tipos. Las estructuras antigénicas que permiten reconocer ocho serotipos, designados por letras que van de la a a la h.

Esta subdivisión puede ser confirmada por muchas otras técnicas.

Dentro del grupo *mutans*, se destacan en relación con caries dental los *Streptococcus mutans* y *S. sobrinus* (véase cap. 19).

- *Streptococcus mutans* puede ser asimilado con los serotipos c, e y f (G+C 36-38 mol %); *S. sobrinus*, con los serotipos d y g; las restantes especies aisladas en humanos son *Streptococcus cricetus* (serotipo a); *S. rattus* (serotipo b).
- *Streptococcus cricetus* es una especie nueva originada a partir de *S. mutans* serotipo a (G+C 42-44 mol %); es difícil separarlo del grupo *S. mutans* por medio de las reacciones bioquímicas.
- *Streptococcus rattus* fue descrito como un serotipo distinto de *S. mutans* y designado como tipo b, produce un glucano extracelular adhesivo a partir de la sacarosa.

Se los aísla de cavidad bucal en baja cantidad. Se diferencia de *S. mutans* por su capacidad de producir amoníaco a partir de la arginina y por sus patrones de proteínas, evidenciadas por electroforesis en gel de poliacrilamida.

Streptococcus del grupo mitis

Grupo conformado por: *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus infantis* y *Streptococcus peroris* (cuadro 18-4).

- *Streptococcus mitis*: se han descrito dos biotipos. El biotipo 1 coloniza las mucosas de la cavidad bucal y forma parte inicial de la biopelícula dental cariogénica de superficies libres. Sólo algunas cepas tienen actividad de IgA1 proteasa. El biotipo 2 se encuentra en el dorso de la lengua.
- *Streptococcus oralis*: es una de las primeras especies que coloniza las superficies dentarias, comparte algunas características con *S. sanguinis* y *S. mutans*. Tiene actividad neuraminidásica y de IgA1 proteasa. Ciertas propiedades de *S. oralis* se asemejan a las de *S. sanguinis* y otras recuerdan a *S. mutans*.
- *Streptococcus peroris*: se encuentran en la biopelícula supragingival y faríngea.

- *Streptococcus infantis*: comparte las características generales de *S. peroris*, pero difiere levemente en el porcentaje de G+C.
- *Streptococcus cristatus*: posee en su superficie fibrillas laterales que le permiten adherirse a especies heterólogas de la biopelícula. Comparte características fenotípicas con *S. gordonii*, pero no favorece la aparición de patógenos periodontales.

S. cristatus inhibe la colonización de *P. gingivalis* e interviene en la formación de señales moleculares que impiden la producción de fimbrias por parte de este microorganismo periodontopático.

Streptococcus del grupo sanguinis

Grupo conformado por *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus parasanguinis* y *Streptococcus gordonii*. (cuadro 18-4).

- *Streptococcus sanguinis*: coloniza la cavidad bucal de los niños después de la erupción dentaria y se ha demostrado que es el primer microorganismo que se instala en superficies dentarias limpias. Pueden ser aislados a partir de la sangre y de válvulas cardíacas, en bacteriemias y endocarditis infecciosa. Producen glucanos solubles a partir de la sacarosa, generan peróxido de hidrógeno, fermentan la inulina y tienen actividad de IgA1 proteasa y así pueden inhibir el desarrollo y la adherencia de otros microorganismos. Los receptores polisacáridos superficiales de *S. sanguinis* promueven la agregación bacteriana. Se unen a la película adquirida y a superficies epiteliales a través de ácidos lipoteicoicos
- *Streptococcus parasanguinis*: se diferencia de *S. sanguinis* en que no fermenta la inulina y no produce polisacáridos extracelulares.
- *Streptococcus gordonii*: forma parte de las biopelículas supragingivales maduras. Produce polisacáridos extracelulares solubles (glucanos) y es incapaz de formar polisacáridos intracelulares. Genera peróxido de hidrógeno.

Streptococcus del grupo anginosus

Este grupo está constituido por *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus* y *Streptococcus intermedius* poseen una serie de características bioquímicas similares, pero pueden ser diferenciados de *S. intermedius* sobre la base de la fermentación de la lactosa.

Streptococcus grupo salivarius

Comprende tres especies: *Streptococcus sali-*

varius, *Streptococcus vestibularis* y *Streptococcus infantarius*; todas colonizan superficies epiteliales.

S. salivarius es uno de los primeros microorganismos en colonizar al neonato y puede encontrarse en las hendiduras del dorso de la lengua y en la saliva. Algunas especies han sido aisladas de la sangre en pacientes con endocarditis infecciosa. No ha sido relacionado con caries dental, razón por la cual se lo considera un verdadero comensal (cuadro 18-4).

- *Abiotrophia* y *Granulicatella*: son considerados variantes nutricionales de los *Streptococcus* (VNS).
Forman parte de la biota normal de la cavidad bucal y ambas se encuentran asociadas con endocarditis infecciosa y *Granulicatella spp.* en episodios de bacteriemia en pacientes neutropénicos.
- *Enterococcus*: *Enterococcus faecalis* ha sido reclasificado a partir de *Streptococcus faecalis*. Producen ácido láctico a partir de la fermentación de la glucosa y forman ácido fórmico y acético además de etanol. Puede ser aislado de la cavidad bucal y parece actuar como agente patógeno en infecciones del tracto urinario y en casos de endocarditis subaguda.
- *Lactobacillus*: son acidogénicos y acidúricos. Sobreviven y se reproducen en condiciones de acidez, poseen metabolismo oxidativo y fermentativo. Se denominan "homofermentativas" las especies que sólo producen ácido láctico a partir de la glucosa y "heterofermentativas" las que además de ácido láctico elaboran otros productos, como ácido acético, etanol y dióxido de carbono.

En la cavidad bucal las "homofermentativas" son las más importantes en relación con la caries dental. *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus salivarius*; ambas son homofermentadoras y metabolizan la glucosa por la vía glucolítica del ciclo de Embden-Meyerhof, con elevada producción de ácido láctico. Se las reconoce como "bacterias lácticas" (cuadro 18-4).

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

Otras especies aisladas de la cavidad bucal incluyen: *L. crispatus*, *L. gasseri* (homofermentativas) y *L. buchneri* (heterofermentativas); no hay evidencias de patogenicidad.

Cuadro 18-4. Géneros microbianos presentes en la cavidad bucal, agrupados por phylum (Marcantoni M, 2007)

1. Géneros tradicionalmente descritos como gramnegativos		
PHYLUM	MORFOLOGÍA Y RESPIRACIÓN	GÉNEROS
BACTEROIDETES	Bacilos anaerobios Bacilos anaerobios Bacilos anaerobios Bacilos anaerobios Bacilos capnófilos	<i>Bacteroides</i> <i>Tannerella</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Capnocytophaga</i>
SPIROCHAETES	Espiroquetas anaerobias	<i>Treponema</i>
SYNERGISTES	Bacilos anaerobios	<i>Synergistes</i> <i>Desulfovibrio</i>
PROTEOBACTERIAS	Bacilos anaerobios Cocobacilos aerobios facultativos o anaerobios Cocobacilos capnófilos Cocobacilos aerobios Cocobacilos anaerobios facultativos Cocos aerobios o microaerófilos	<i>Campylobacter</i> <i>Haemophilus</i> <i>Aggregatibacter</i> <i>Kingella</i> <i>Eikenella</i> <i>Neisseria</i>
CHLAMIDIÆ	Formas cocoidea parásitos intracelulares	<i>Chlamidophila</i>

2. Géneros tradicionalmente descritos como grampositivos

2.1. Phylum Firmicutes: bajo contenido de G+C

Clase Bacilli	
Aerobios o facultativos	
Familia bacillales	Familia lactobacillales
<i>Gemella</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Filifactor</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>Filobacillus</i>	<i>Abiotrophia</i>
<i>Stomatococcus</i>	<i>Granulicatella</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>

Clase Clostridia	
Anaerobios	
Cocos grampositivos	Cocos gramnegativos
<i>Finegoldia</i>	<i>Veillonella</i> **
<i>Micromonas</i>	<i>Megasphaera</i> **
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Dialister</i> ** (coco-bacilo)
<i>Peptoniphilus</i>	Bacilos curvos gramnegativos
<i>Anaerococcus</i>	<i>Selenomonas</i> **

**Aunque tintorialmente se comportan como gramnegativas, su pared celular es grampositiva, con un contenido de peptidoglucano inferior a lo normal. Bajo contenido de G+C

2.2. Phylum Actinobacterias: alto contenido de G+C

Anaerobios y anaerobios facultativos	
Bacilos	Cocos
<i>Atopobium</i>	<i>Corynebacterium</i>
<i>Olsenella</i>	Filamentosos
<i>Parascardovia</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>Scardovia</i>	<i>Rothia</i>
<i>Bifidobacterium</i>	
<i>Propionibacterium</i>	

2.3. Phylum Fusobacteria*

Bacilos Anaerobios
<i>Fusobacterium</i>
<i>Leptotrichia</i>

*Se tiñen como gramnegativos

2.4. Phylum Deinococcus-Thermus

Cocos aerobios facultativos
<i>Deinococcus</i>

Otros géneros de interés odontológico: *Streptomyces*, *Micrococcus*, *Slackia*, *Cryptobacterium* y *Acatinobaculum*

2.5. Phylum Acidobacteria

Bacilos aerobios

Acidobacterium

2.6. Phylum Chloroflexi

Filamentos aerobios facultativos

Chloroflexus

Otros Organismos:

1) Mycoplasma

Micoplama salivarium

M. buccale

M. faucium

M. orale

3) Virus

Epstein Barr

Cytomegalovirus

2) Hongos

Candida albicans

C. tropicalis

C. stellatoidea

C. krusei

4) Protozoos

Entamoeba gingivalis

Trichomonas tenax

2.1.2. Clase Clostridia

Filotipos no cultivables aislados de bolsas periodontales: *Deferribacteres*, *Megasphaera*, *Desulfobulbus* y *Lachnospira*.

- *Veillonella*: son cocos que se tiñen como gram-negativos (poseen una pared celular con bajo contenido en G+C). Se conocen dos especies: *Veillonella parvula* y *Veillonella alcalescens*. Algunos estudios indican que ambas especies son idénticas y pueden ser descritas como *V. parvula*.

Recientemente se han aislado dos especies más: *V. dispar* y *V. atypica*.

Estos microorganismos se los encuentra en estado de salud en el dorso de lengua y forma parte de la biopelícula supragingival, aislados y coagregados con *Actinomyces*.

- *Selenomonas*: este género, que todavía se considera incierto, incluye tres especies principales: *Selenomona noxia*, *S. artemidis* y *S. sputigena*. *S. sputigena* se encuentra en la cavidad bucal, en bolsas periodontales de seres humanos, pero no está claro su grado de patogenicidad.

- *Dialister*: se describe la especie denominada *Dialister pneumosintes* y analizando la secuencia de genes RNAr 16S, se ha encontrado un nuevo género similar, denominado *Dialister invisus sp. nov.* en canales radiculares y en bolsas periodontales en pacientes con enfermedad periodontal.

- *Peptostreptococcus*: los *Peptostreptococcus* son objeto de revisión. Diversos microorganismos fueron separados del género y reclasificados. Los nuevos géneros son: *Anaerococcus*, *Finegoldia*, *Micromonas*, *Peptoniphilus*, *Schleiferella*.

Peptostreptococcus micros fue reclasificado como *Micromonas micro*, *Peptostreptococcus prevotii* como *Anaerococcus prevotii*. El *Peptococcus magnus* se conoce actualmente como *Finegoldia magna* y *Peptostreptococcus asaccharolyticus* se denomina *Schleiferella asaccharolytica*.

Se mantiene la denominación de *Peptostreto-*

coccus anaerobius, poco relacionada con el resto de las especies que constituían el género. *Peptostreptococcus* integran parte de la microbiota del surco gingival en presencia de gingivitis y periodontitis y son identificados en el canal radicular y en abscesos de origen dentario.

M. micros es un componente importante de la microbiota del surco gingival, se lo detecta con escasa frecuencia en estado de salud.

M. micros se asocia con *P. melaninogenica* en procesos endodónticos y se lo relaciona con la halitosis por producir hidrógeno sulfurado.

- *Finegoldia*: La única especie del género es *Finegoldia magna*. Se encuentra en bajo número en la cavidad bucal.

- *Eubacterium*: Se han aislado especies de *Eubacterium* de la biopelícula de placa supra y subgingival, caries de dentina y tejidos pulpaes necróticos.

En la biopelícula subgingival se han identificado especies asacarolíticas: *E. brachy*, *E. nodatum* y *E. saphenum*; *E. timidum* (reclasificada como *Mogibacterium timidum*) y especies sacarolíticas: *E. saburreum*, *E. yurii* y *E. ingrens*.

E. yurii se encuentra en asociaciones con bacilos o cocos de la biopelícula de placa dental, formando "cepillos" o "espigas".

Hay nuevas especies: *E. tardum*, *E. infirmum* y *E. minutum*.

- *Shuttleworthia*: estos microorganismos fueron sometidos a un amplio rango de estudios fenotípicos y genéticos. Bioquímicamente comprenden un grupo homogéneo y los análisis filogenéticos indican que constituyen un nuevo género dentro del subphylum *Clostridium* *Bacillus* del phylum *Firmicutes*.

Provisoriamente son identificados como cercanos al género *Eubacterium*. Se propuso la denominación *Shuttleworthia satelles gen. nov. sp. nov.* (género nuevo, especie nueva).

- *Bulleidia*: nuevo género, la especie descrita es *Bulleidia extracta* recientemente aislada en sitios con periodontitis avanzada y de abscesos dentoalveolares. Su caracterización fenotípica y genética no corresponde con otras especies.

2.2. Phylum Actinobacteria

Microorganismos grampositivos con contenido alto de G+C (cuadro 18-4)

Se describen únicamente los géneros y especies de interés odontológico.

- *Bifidobacterium*

Poco numerosos en la cavidad bucal. Se han aislado dos especies a partir de la biopelícula dental y de caries de dentina *Bifidobacterium inopinatum* y *Bifidobacterium denticolens*.

- *Actinomyces*

Todas las especies identificadas se consideran comensales normales del ser humano y los animales, y no se las ha encontrado en otros sitios.

Aparecen después de la erupción de las piezas dentarias.

Las especies *A. viscosus*, *A. naeslundii* y *A. odontolyticus* tienen menor patogenicidad. En cambio, *A. israelii* está más implicado en actinomicosis cervicofacial y tumores del maxilar (véase cap. 21).

Otras especies, como *A. meyeri*, han sido encontradas en abscesos cerebrales.

- *Actinomyces viscosus* y *A. naeslundii*

Ambos forman parte de la biopelícula dental y no causan infecciones graves en el ser humano; son muy similares.

Dentro de la cavidad bucal se encuentran con preferencia en el dorso de la lengua, criptas amigdalinas, biopelícula de placa supragingival, cálculos y caries de raíz.

En la superficie de *A. naeslundii* se encuentran fimbrias: unas relacionadas con la adhesión a las distintas superficies y otras asociadas con la coagregación célula a célula.

Unas cepas producen fructanos, polisacárido extracelular, a partir de la sacarosa y otras ureasa que actúa como *buffer* para modular la acidez de la biopelícula.

- *Actinomyces odontolyticus*

Esta especie está relacionada con la progresión de pequeñas lesiones de caries en dentina y en enfermedades periodontales.

- *Actinomyces israelii*

Este microorganismo es un miembro normal de la biota bucal. Se lo aísla de las criptas amigdalinas y de cálculos dentales. Se comporta como patógeno oportunista, causa actinomicosis en la región cervicofacial o puede diseminar y causar lesiones profundas.

Cepas clasificadas originalmente como *A. israelii* serotipo 2 han sido reclasificadas como especies separadas: *A. gerencseriae*, que es un componente habitual pero en bajo número de la biota del surco gingival y ha sido aislado de abscesos y *A. georgiae* encontrado ocasionalmente en el surco gingival en estado de salud. (véanse caps. 21 y 22) (cuadro 18-4).

- *Propionibacterium*

Es miembro de la microbiota bucal normal. Se los ha aislado de biopelícula dental, dentina cariada y tejidos pulpaes necróticos. Hay una sola especie, *Propionibacterium propionicus*, causa actinomicosis. En la piel se encuentra *Propionibacterium acnes*, también aislado de la cavidad bucal, en placa dental, caries de dentina y tejidos pulpaes necróticos.

- *Rothia*

Se reconocen dos especies: *Rothia dentocariosa*, que habitualmente se aísla de biota humana normal, en particular de la saliva, la biopelícula dental y los cálculos.

Rothia mucilaginosa (ex *Stomatococcus mucilaginosus*) miembro de la microbiota en estado de salud, se lo aísla de lengua, nasofaringe, de secreciones bronquiales y de hemocultivos. Las investigaciones revelan que este microorganismo produce una abundante cantidad de polisacáridos extracelulares que se comportan como adhesinas.

- *Corynebacterium*

Corynebacterium matruchotti, antes *Bacterionema matruchotti*, se aísla de la cavidad bucal del hombre, especialmente de la biopelícula supragingival y de cálculos, y es posible que tenga alguna relación con la calcificación del biofilm de la placa dental y la transformación de éste en cálculo dental.

3. Phylum Fusobacteria

Comprende los géneros *Fusobacterium* y *Leptotrichia*. Son bacterias anaerobias que, si bien

se tiñen como las bacterias gramnegativas, son consideradas actualmente dentro de las grampositivas.

- *Fusobacterium*

En la cavidad bucal se han tipificado dos especies de fusobacterias, a saber: *Fusobacterium nucleatum* y *Fusobacterium periodonticum*.

F. nucleatum puede ser aislado de pacientes con infecciones del tracto respiratorio superior y de la cavidad bucal en lesiones periodontales. No se lo considera un patógeno periodontal primario, tiene un papel importante en la agregación interbacteriana en la biopelícula. En el *F. nucleatum* se ha descrito un sistema de transferencia de plásmidos.

- *Leptotrichia*

En el presente *Leptotrichia* es un género representado por una especie tipo, *Leptotrichia buccalis*. En los cultivos jóvenes este germen presenta características de grampositivo, pero a partir de las 24 horas de cultivo comienza a aparecer como gramnegativo, aunque posee gránulos grampositivos en su citoplasma. Fermenta los hidratos de carbono en forma similar a los lactobacilos homofermentadores. Todavía no se ha probado su patogenicidad en la cavidad bucal.

4. Phylum *Deinococcus-Thermus*

Deinococcus-Thermus es un pequeño filo de bacterias grampositivas altamente resistentes a los cambios en el medio ambiente. *Deinococcus spp* es el género aislado de la cavidad bucal.

5. Phylum *Acidobacteria*

Incluye bacterias aerobias o fermentativas productoras de azufre. Género de interés odontológico *Acidobacterium*.

6. Phylum *Chloroflexi*

Chloroflexaceae o *Chloroflexi* son bacterias

verdes no sulfurosas. Obtienen energía mediante fotosíntesis. Su vía de fijación del carbono difiere de otras bacterias fotosintéticas.

OTROS MICROORGANISMOS

Micoplasmas

Los micoplasmas se aíslan del surco gingival, entre ellos *Mycoplasma buccale*, *M. faucium*, *M. orale* y *M. salivarium*.

Sin lugar a dudas habrá modificaciones en la ubicación taxonómica de algunos géneros o se tipificarán otras especies con el auxilio de nuevas técnicas (véase cap. 4).

Hongos

Se han aislado distintas especies. *Candida albicans* es la identificada con mayor frecuencia, en la lengua, el paladar y la mucosa yugal, y su número aumenta ante un sistema inmune deprimido o ante un trastorno en el equilibrio de la microbiota bucal debido al uso inadecuado de antibióticos.

La mayoría de los aislamientos corresponden a *Candida albicans* (>90%) (cuadro 18-3) (véase cap. 24).

Virus

Con frecuencia se presentan sobreinfecciones con *Cytomegalovirus* y virus Epstein Barr en periodontitis en actividad en adolescentes y adultos jóvenes. Su presencia se encuentra relacionada con el predominio de determinados géneros de microorganismos anaerobios estrictos en el biofilm de placa subgingival (véase cap. 20).

Protozoos

Se han aislado dos géneros *Entamoeba* y *Trichomonas* (véase cap. 26).

Resumen

La ecología se ocupa de estudiar la relación entre los organismos y su ambiente. En la cavidad bucal las características fisicoquímicas del medio inciden en la composición y la actividad de la microbiota que habita en ese lugar. El sitio, donde se desarrollan los microorganismos, es el hábitat. Existe una amplia gama de factores de importancia ecológica que influyen en la composición y la actividad de la microbiota en los distintos hábitats de la cavidad bucal.

El conjunto de las especies microbianas que se desarrollan en un hábitat particular constituye una comunidad.

La comunidad de un hábitat específico, junto con los elementos abióticos que la acompañan, constituyen el ecosistema.

El término nicho ecológico describe la función de un microorganismo en un hábitat particular y demarca su papel en la comunidad.

Cabe destacar el papel de la saliva que, considerada como un sistema, cumple diversas funciones benéficas para el hospedador (cuadro 18-3) (fig. 18-5).

La composición de la microbiota bucal varía desde el nacimiento y durante toda la vida influenciada por los factores microbianos y no microbianos que conforman la sucesión autógena y alogénica.

El mayor ejemplo de sucesión autógena está dado por el desarrollo de la biopelícula dental, considerada una "comunidad ecológica".

El primer paso para el establecimiento de la biopelícula es la adherencia microbiana mediada por distintos mecanismos inespecíficos y específicos a través de la interrelación entre adhesinas y receptores. A la adhesión de los primeros colonizadores le siguen fenómenos de coagregación, lo que constituye el denominado "mosaico de microorganismos", el cual varía de acuerdo con las propiedades biológicas y físicas del sitio.

Entre los microorganismos que constituyen la microbiota autóctona de la cavidad bucal, se destacan los microorganismos pertenecientes a los *phylum: Firmicutes* y *Actinobacteria* entre los grampositivos y los que se encuentran dentro de los *phylum Bacteroidetes, Spirochaetes, Synergistes* y *Proteobacterias* que agrupan a los microorganismos considerados actualmente como gramnegativos.

Los cocos grampositivos, fundamentalmente *Streptococcus viridans* del *phylum Firmicutes*, son los más aislados en los ecosistemas bucales en estado de salud.

Los *Streptococcus* del grupo *mutans* (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*) son los microorganismos más asociados con caries dental.

También se identifican otras formas cocoideas, anaerobias estrictas, como *Veillonella* y elementos filamentosos polimorfos, como *Lactobacillus, Actinomyces* y *Bifidobacterium*.

La mayor parte de los microorganismos asociados con enfermedad periodontal se encuentra dentro de los *phylum* tradicionalmente como gramnegativos: *Bacteroidetes, Spirochaetes, Synergistes, Proteobacterias* y *Chlamidiae* (cuadro 18) (véase cap. 20).

También se encuentran espiroquetas comensales y hongos como *Candida albicans*, especies de *Mycoplasma* y virus como Epstein-Barr y *Cytomegalovirus*.

El conocimiento de la ecología de la cavidad bucal permite determinar el proceso que involucra, fundamentalmente, la etiopatogenia de la caries dental y las enfermedades periodontales y, como consecuencia, su prevención; también contribuye a identificar las complicaciones sistémicas por la microbiota bucal (véase cap. 22).

Preguntas de revisión

1. Defina conceptualmente "nicho ecológico".
2. Mencione los distintos nichos ecológicos de la cavidad bucal.
3. Enumere y describa los factores que afectan el desarrollo de los microorganismos de la cavidad bucal.

4. ¿Podría mencionar las funciones de la saliva relacionadas con caries dental?
5. ¿Qué mecanismos de adherencia bacteriana conoce?
6. ¿Cómo regulan los microorganismos de la biopelícula su permanencia en ella?
7. ¿Cuál es el *phylum* de microorganismos que predomina en la cavidad bucal?
8. ¿Qué géneros y especies son los representativos del *phylum Firmicutes*?
9. ¿Qué características poseen los microorganismos denominados lácticos?
10. ¿Qué características morfológicas y tintoriales y qué requerimientos de oxígeno tienen los microorganismos asociados con la placa subgingival? ¿En qué se diferencian con los que componen la placa supragingival?

BIBLIOGRAFÍA

- Aas JJ, Paster BJ, et al. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005; 43 (11):5721-22.
- Allaker R P, Dymock D. Proceedings of the 8th European Oral Microbiology Workshop. *Adv Dent Res*, 2005; 18:27-33.
- Axelsson P. Internal modifying factors involved in dental caries. In: Axelsson P. *Diagnosis and risk prediction of dental caries*. Vol 2. Germany: Quintessence Publishing Co, 2000. pp. 91-133.
- Céspedes C, Pardi G, Guilarte C. Treponemas de interés en cavidad bucal. *Acta Odontol Venez* 2006;44(1):145-46. Print ISSN 0001-63665.
- Cisar JO, Takahashi R, et al. Specific inhibitors of bacterial adhesion: Observations from the study of Gram – positive bacteria that initiate biofilm formation on the tooth surface. *Adv Dent Res*, 1997; 11(1):168-75.
- Coykendall AL. Classification and identification of viridans streptococci. *Clin Microbiol Rev*, 1989;2:315-328.
- De Jong MH, Van Der Hoven JS. The growth of oral bacteria on saliva. *J Dent Res* 1987; 66(2):498-505.
- Downes J, Munson M, et al. *Shuttleworthia satelles* gen.nov., sp.nov., isolated from the human oral cavity. *Internacional Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (Int J Syst Evo Microbiol)*, 2002;52(5):1469-1475. ISSN 1466-5026.
- Downes J, Munson M, Wade WG. *Dialister invisus* sp.nov. isolated from the human oral cavity. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003;53(6):1937-40.
- Downes J, Olsvik B, et al. *Bulleidia extracta* gen. nov., sp nov., isolated from the oral cavity. *Int J Syst Devol Microbiol*, 2000;50:979-83.
- Dowsett SA, Kowolik MJ. Oral *Helicobacter pylori*: can we stomach it? *Crit Rev Oral Biol Med*, 2003;14(3):226-33.
- Duncan MJ. *Microbiología bucodental y genómica*. *Periodontology 2000 (Ed. Esp.)*, 2006;12:63-71.
- Facklam R. What happened to streptococci overwie of taxonomic and nomenclatura. changes. *Clin Microbiol* 2002; 15:6616-630.
- Farinati A. Sideróforos y lactoferrina: ¿Pro o contra durante las infecciones? *Asociación Argentina de Microbiología Boletín* N° 171. Enero-Marzo 2006;13-16.
- Fredricks DN, Relman DA. Sequence – Based Identification of Microbial Pathogens:a Reconsideration of Koch's Postulates. *Clinical Microbiology Reviews*, 1996;9(1)18-33.
- Gibbons. Bacterial adhesion to oral tissue: a model for infectious diseases. *J Dent Res*, 1989;68(5):750-60.
- Goncalves P. Relevancia y participación de las biopelículas microbianas en las infecciones endodólicas. *The Dental Guest*. Carlos Bóveda. Endodoncia. Caracas, Venezuela. Invitado 52 Junio 2007;1-59.
- Handley PS, Correia FF, Russell K, et al. Association of a novel high molecular weight serine-rich protein (SrpA) with fibril-mediated adhesion of the oral biofilm bacterium *Streptococcus cristatus*. *Oral Microbiology and Immunology*, 2005;20(3)131-140.
- Horz HP, Citron DM. Synergistes group organisms of human origin. *J Clin Microbiol*, 2006;44(8):2914-20.
- Jefferson K. What drives bacteria to produce a biofilm? *Microbiology Letters*, 2004;236:163-73.
- Jousimies-Somer Hr, Summanen P, et al. *Anaerobic bacteriology manual*. Belmont: Star Publishing Company, 2002.
- Kamma J, Slots J. Herpes-bacterial interacciones in aggressive periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 2003;30(5):4420-26.
- Keller L, Surette MG. Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. *Nature Reviews Microbiology*, 2006;4:249-58.
- Kesic L, Jovanovic G, et al. Normal oral flora: a new classification, part 1. *Acta Odontológica NAISSI*, 2003;19(41):25-31.
- Kesic L, Jovanovic G, et al. Normal Oral Flora: a new classification, part 2. *Acta Odontológica NAISSI*, 2003;19(42):85-90.
- Kolebrander PE. Oral microbial communities: biofilm, interactions, and genetic systems. *Anu Rev Microbiol* 2000;54:413-37.
- Kolebrander PE, Andersen RN, et al. Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2002;66(3):486-505.
- Kumar PS, Griffen AL et al. Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16 S clonal analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005;43(8):3944-55.
- Kuramitsu KH. Molecular genetic analysis of the virulence of oral bacterial pathogens: an historical perspective. *Crit. Rev. Oral Biol Med*, 2003;14(5):331-44.
- Lejbnkiewicz F, Kassis K. *Granulicatella* and abiotrophia species: cause or consequence? *Clin Microbiol News*, 2002;24:125-27.
- Leone CW, Oppenheim FG. Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in humans. *Journal of Dental Education*, 2001;65(10)1054-1059.
- Lopardo H, Mastroianni A, Casimir L. Bacteriemia por abiotrophia defectiva en un paciente pediátrico neutropénico febril. *Asociación Argentina de Microbiología*, 2007;39:93-4.
- Llena Puy C. La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. *Med Oral Patol Cir Bucal*, 2006;11:E 449-55
- Madiner I. Flore bacteriene buccale et potentiel pathogene. *J de Biologie Bucale*, 1991;19(1):3-15.
- Marcantoni M. Ecología de la cavidad bucal. En: Negroni M. *Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1999;189-217.

- Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol*, 2005;32 Suppl 6:7-15.
- Marsh PD, Bradshaw DJ. Physiological approaches to the control of oral biofilms. *Adv Dent Res*, 1997;11(1):176-85.
- Miller MB, Bassier BL. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 2001;55 :165-99.
- Moncla BJ, Hillier SL. Peptococcus, Propionibacterium, Lactobacillus, Actinomyces and other non-spore-forming anaerobic gram-positive bacteria. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC Editores. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. Washington: American Society for Microbiology, 2003; pp. 857-879.
- Nieuw Amerongen AV, Bolscher JGM, Veerman ECI. Salivary proteins ¿Protective and diagnostic value in Cariology? *Caries Res*, 2004;38:247-253.
- Norskov-Lauritsen N, Kilian M. Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen.nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* com.nov. and *Aggregatibacter segnis* comb.nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2006;56:2135-46.
- Perea EJ. La microbiología oral en la era de la genómica y la proteómica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2005;23(3):113-15.
- Perez A. La biopelícula : una nueva visión de la placa dental. *Rev Estomatol Herediana*, 2005;15(1):82-5.
- Peter Horz H, Citron DM, Warren Y, et al. *Synergistes* group organisms of human origin. *J Clin Microbiol*, 2006;44(8):2914-20
- Reading NC, Sperandio V. Quorum sensing: the many languages of bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, 2006;254(1):1-11.
- Roitt IM, Lehner T. Oral immunity. In: *Immunology of oral diseases, part II: Immunological aspects of oral diseases*. Londres: Blackwell Scientifics Publications, 1980; pp. 297-322.
- Ruoff KL. Minireview. Miscellaneous Catalase Negative, Gram-Positive Cocci: emerging opportunists. *J Clin Microbiol*, 2002;40(4):1129-33.
- Samanarayake IP. *Essential microbiology for dentistry*. 2nd ed. New York: Churchill & Livingstone, 2002; pp. 95-210.
- Scheie A, Petersen F. The biofilm concep consequences for future prophylaxis of oral diseases? *Crit Rev Oral Biol Med*, 2004;15(2):4-12.
- Serrano-Granger J, Herrera D. La placa dental como biofilm. ¿Cómo eliminarla? *RCOE*, 2005;10(4):431-39.
- Socransky S, Haffajee A. *Ecología microbial periodontal*. *Periodontology 2000 (Ed Esp)*, 2006;135-87.
- Suzuki N, Yoshida A, et al. Quantitative análisis of multi-species oral biofilm by Taq-Man Real-Time PCR. *Clinical Medicine y Research*, 2005;3(3):176-185.
- Tanner A, Maiden MF, Paster BJ, Dewhirst FE. The impact of 16S ribosomal RNA-based phylogeny on taxonomy of oral bacteria. *Periodontology 2000*, 1994; 5:26- 51.
- Tao R, Jurevic RJ, et al. Salivary antimicrobial peptide expression and dental caries experience in children. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2005;49(9):3883-88.
- Xie H, Cook GS, Costerton JW, et al. Intergeneric communication in dental plaque biofilms. *J Bacteriol*, 2000;182:7067-69.
- Wallace Park AW, Yaacob HB. Pathogenic microbes of the oral environment. *J Nihon Univ Sch Dent*, 1994;36(1):1-33.
- Wrick P. Intracelular survival by Chlamydia. *Cell Microbiol*, 2000;2(4):275-82.

CARIES DENTAL ANTIMICROBIANOS Y VACUNAS PARA SU CONTROL

1º PARTE

CARIES DENTAL

Mabel Marcantoni

Contenidos

Cambio de paradigma de Fitzgerald y Keyes a Fejerskov. Paradigma actual. Fejerskov. Factores que intervienen en el proceso salud/enfermedad del hospedador. La dieta. Metabolismo de la sacarosa. Los microorganismos. Otros estreptococos. Lactobacillus. Especies de *Actinomyces*. Factores de virulencia de los microorganismos relacionados con caries dental. El factor tiempo. El tiempo y el sustrato. Ventana de la infección. Formación y desarrollo de la biopelícula de placa dental. Cutícula acelular adquirida. Capa formada por microorganismos y polímeros extracelulares. Complejidad. Multiplicación y remodelación. Tipos de caries según su localización. Caries de esmalte. Patogenia de la lesión de esmalte. Mancha blanca. Caries de superficies libres. Caries de superficies proximales. Caries de puntos y fisuras. Caries de dentina. Caries de cemento (raíz). Pruebas microbiológicas de actividad de caries.

Objetivos

- Mencionar y describir los factores involucrados en la etiología de la caries dental.
- Enumerar y describir las matrices que conforman la biopelícula para caries dental.
- Describir los géneros y las especies de microorganismos asociados con el comienzo y la progresión de la caries dental.
- Mencionar los factores de virulencia de *S. mutans* en la cariogénesis.
- Enumerar los factores que influyen en la cariogenicidad de los carbohidratos.
- Describir las características de los polisacáridos extracelulares involucrados en la etiología de la caries dental.
- Explicar el concepto "ventana de la infección".
- Describir la lesión inicial del esmalte, "mancha blanca".
- Enumerar y describir las características de los microorganismos asociados con caries de dentina.
- Enumerar y describir las características principales de los microorganismos asociados con los distintos estadios de caries de raíz.
- Citar la utilidad de las pruebas microbiológicas de actividad de caries utilizadas en la práctica odontológica.

INTRODUCCIÓN

La etiopatogenia de la caries dental fue propuesta por W. Miller en 1882; según Miller el factor más importante en la patogenia de la enfermedad era la capacidad de gran número de bacterias bucales de producir ácidos a partir de los hidratos de carbono de la dieta, hipótesis que sustentó experimentalmente al aislar varios grupos de microorganismos bucales que eran cariogénicos.

Paul Keyes en 1960, en forma teórica y experimental, estableció que la etiopatogenia de la caries obedece a la **interacción simultánea de tres elementos o factores principales: un factor "microorganismo" que en presencia de un factor "sustrato" logra afectar a un factor "diente" (también denominado hospedero)**. La representación esquemática de estos tres factores básicos se conoce como tríada de Keyes.

Si estos condicionantes confluyeran sólo durante un período muy breve, la enfermedad cariosa no se produciría; por lo tanto, se ha agregado el **tiempo** de interacción de éstos, así como diversas variables e interrelaciones que inciden como modificadores de este proceso. Al factor tiempo se le incluyen, a partir de los años ochenta los denominados **“factores de riesgo”**. Éstos son modificadores externos e internos del proceso de caries dental.

Es a partir de la inclusión de los factores de riesgo externos e internos que podemos considerar un giro en el estudio de la caries dental. En las últimas décadas los modelos clásicos han sido cuestionados, lo que dio origen a otras corrientes de investigación integradoras.

Cambio de paradigma de Fitzgerald y Keyes a Fejerskov

En los años sesenta, el paradigma de investigación dominante es el representado por Pooper, basado en el empirismo y el positivismo. Su caracte-

terística principal radica en la construcción de instrumentos y en un rigor científico determinado por su precisión estadística y la replicación de los resultados.

Impregnada por este paradigma surge la teoría de Fitzgerald y Keyes, quienes a partir de lo observado en animales de experimentación, hamsters, en condiciones experimentales y trabajando con una cepa de *S. mutans* identificada bioquímica y serológicamente como *S. mutans* 6715, serotipo c., inoculada en animales gnotobióticos (libres de gérmenes) concluyen, luego de las experiencias, que la caries dental es una enfermedad infecciosa de naturaleza multifactorial, porque cumple con los postulados de Koch-Henle (1884).

Los postulados de Koch-Henle se basan en la presencia de un microorganismo específico asociado con la enfermedad, pero resultan inadecuados para muchas otras enfermedades infecciosas.

No se tuvo en cuenta en ese momento: a) las características propias de cada uno de los hospederos, b) los cofactores que intervienen en el estable-

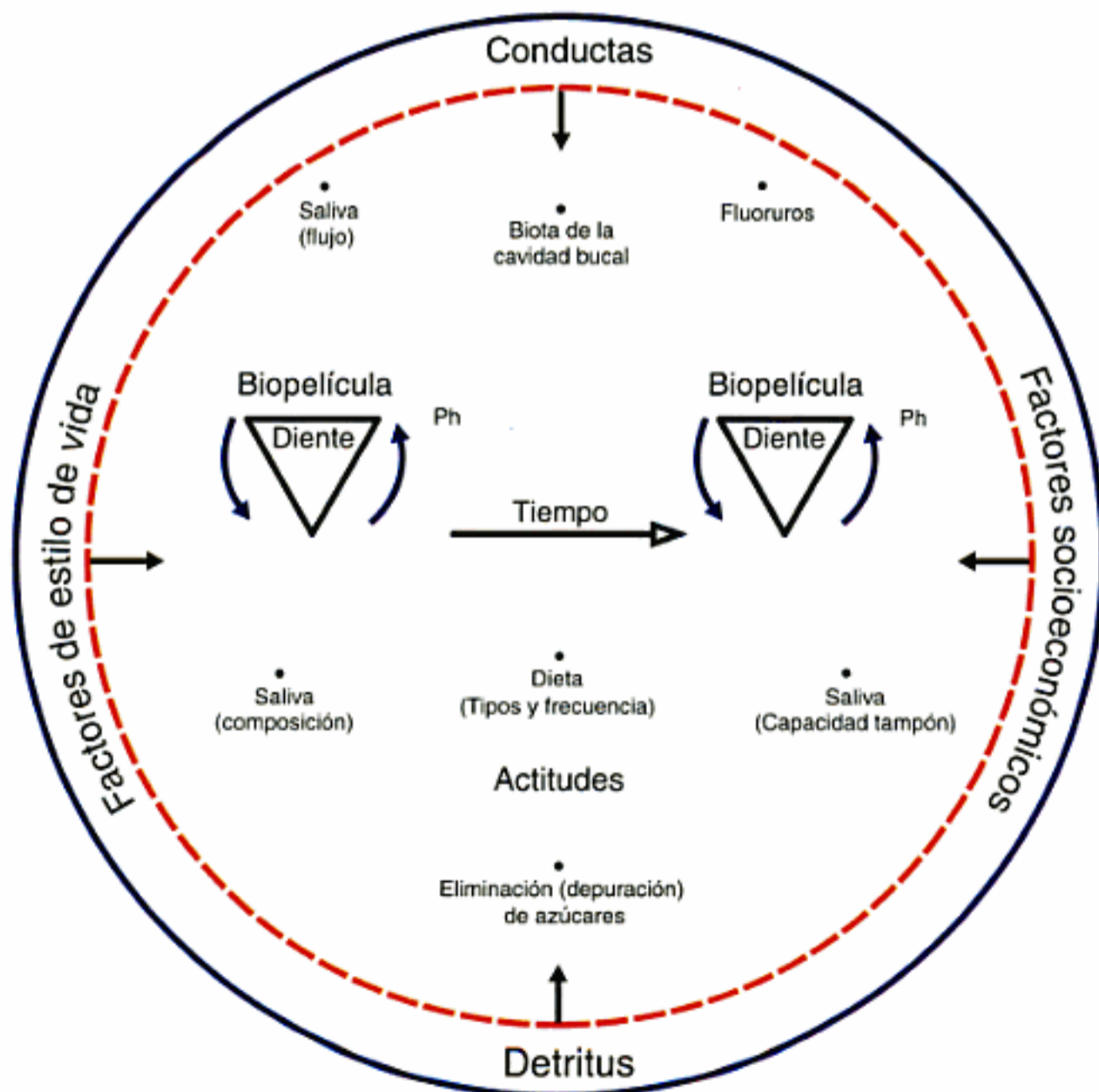


Fig. 19-1. Etiología de la caries dental. Factores asociados. Adaptado de Fejerskov, 2004.

cimiento de la caries dental y c) que los microorganismos asociados con su etiología eran una biota autóctona de la cavidad bucal en estado de salud.

En 1978, Alfred Evans, de acuerdo con los nuevos conceptos de causalidad, sostuvo que los postulados de Koch-Henle debían ser modificados para muchas otras enfermedades.

Cuando los microorganismos no son tan tóxicos o virulentos, para que su presencia desencadene la enfermedad, hay que considerar **factores múltiples**, donde pueden incluirse los **antagonismos bacterianos** y la presencia de **sustancias antimicrobianas** en el medio ambiente donde desarrollan (véase cap. 18).

En 1997, S. Falkow propuso una versión molecular de los postulados de Koch-Henle donde sostuvo que era necesaria la presencia de un gen en las bacterias causantes de una enfermedad infecciosa, que no está presente en las avirulentas.

Paradigma actual. Fejerskov

En el marco del actual paradigma se considera a la caries dental como una **enfermedad infecciosa, no clásica**, que se origina como la consecuencia de los cambios ecológicos que se producen en la biopelícula de placa dental, conformada por los denominados microorganismos residentes o autóctonos y no por microorganismos patógenos oportunistas. En función tiempo y bajo las influencias del medio en el que se desarrollan estos microorganismos se adhieren a las superficies dentarias, conformando la biopelícula con mayor o menor grado de patogenicidad de acuerdo con su virulencia.

Fekerskov encuentra asociación entre el *S. mutans* y la enfermedad caries dental, con valor predictivo, pero pone en dudas su papel como agente etiológico, ya que si este microorganismo forma parte de la microbiota residente, puede estar presente sin que se desarrolle la lesión cariogénica.

Asimismo, han aparecido pacientes que desarrollaron caries aún en ausencia de *S. mutans* y se han aislado numerosas bacterias, del interior de la biopelícula, con capacidad para producir ácidos a partir de los hidratos de carbono provenientes de la dieta. **La caries dental se define como una enfermedad infecciosa, compleja, transmisible y multifactorial, en la que un amplio grupo de factores biológicos, socio-económicos y culturales interactúan, directa o indirectamente en el establecimiento y desarrollo de los microorganismos cariogénicos incluidos en la comunidad microbiana de la biopelícula dental (fig. 19-1). Afecta a la estructura dura de las piezas dentarias y se caracteriza por su desintegración**

molecular, localizada y progresiva que lleva, si no se detiene su avance natural, a una lesión irreversible.

La enfermedad caries dental finalmente surge del desequilibrio fisiológico entre el mineral de las piezas dentarias y los constituyentes de la biopelícula.

FACTORES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO SALUD / ENFERMEDAD DEL HOSPEDADOR

Los factores socioeconómicos, culturales y del estilo de vida no sólo condicionan hábitos dietéticos, de higiene oral y de frecuencia y tipo de atención odontológica, sino que además favorecen situaciones de estrés.

Otros factores propios del hospedador y del medio influyen en la transmisión y el desarrollo de la enfermedad caries. Éstos incluyen las situaciones que interfieren con el desarrollo de los mecanismos de defensa inespecíficos y específicos presentes en el medio bucal, particularmente en la saliva.

La cantidad y la calidad de la saliva se ven alteradas por el consumo de drogas antihipertensivas, anticolinérgicas, sedantes, etc., que producen xerostomía o hipofunción de las glándulas salivales.

Todos los factores del hospedero y del medio, que favorecen la biopelícula pueden ser definidos como **factores de riesgo** para el desarrollo de caries.

LA DIETA

La interacción entre la dieta y la caries dental constituye un aspecto de importancia trascendental, ya que los alimentos son la fuente de los nutrientes necesarios para el metabolismo de los microorganismos.

No hay ninguna evidencia de producción natural de caries sin la presencia de carbohidratos en la dieta. A esto debe agregarse que la placa o biofilm expuesto a azúcares produce un descenso del pH que es necesario para la descalcificación del esmalte.

Metabolismo de la sacarosa

La sacarosa es el sustrato para el metabolismo bacteriano. El metabolismo de la sacarosa incluye tres etapas fundamentales:

1. Producción de ácidos.
 2. Síntesis de polisacáridos extracelulares.
 3. Síntesis de polisacáridos intracelulares.
- (Véase en este capítulo factores de virulencia)

Producción de ácidos

La mayor parte de la sacarosa que ingresa en la cavidad bucal es utilizada como fuente energética por los microorganismos.

Dentro de las células la sacarosa es desdoblada por la acción de la enzima invertasa en glucosa y fructosa y debido a su fosforilación se convierte en glucosa 6 fosfato (G6P).

A partir de la sacarosa 6 fosfato hidrolasa se originan glucosa 6 fosfato y fructosa, a las que por la vía del ciclo Embden-Meyerhof-Parnas van a dar lactato y pequeñas cantidades de formato, acetato y etanol.

La célula bacteriana cuenta con dos mecanismos de transporte: a) el sistema fosfoenolpiruvato-fosfotransferasa y b) el sistema asociado con permeasas y traslocación de protones (fig. 19-2).

Polisacáridos extracelulares

Antes de que la sacarosa penetre en la célula un porcentaje de ella es transformado por exoenzimas de *S. mutans* que la rompen y transfieren cada fracción hexosa a una molécula receptora y forman polímeros que se difunden en el medio vecino o permanecen asociados con la célula.

Estos polímeros son:

- Glucanos solubles: dextranos.**
- Glucanos insolubles: mutanos.**
- Fructanos solubles: levanos.**

En los **glucanos solubles** predominan los enlaces alfa (1-6) y en los **insolubles** los enlaces alfa (1-3); en los fructanos hay uniones beta (2-6) o beta (1-2). La formación de estos polímeros se

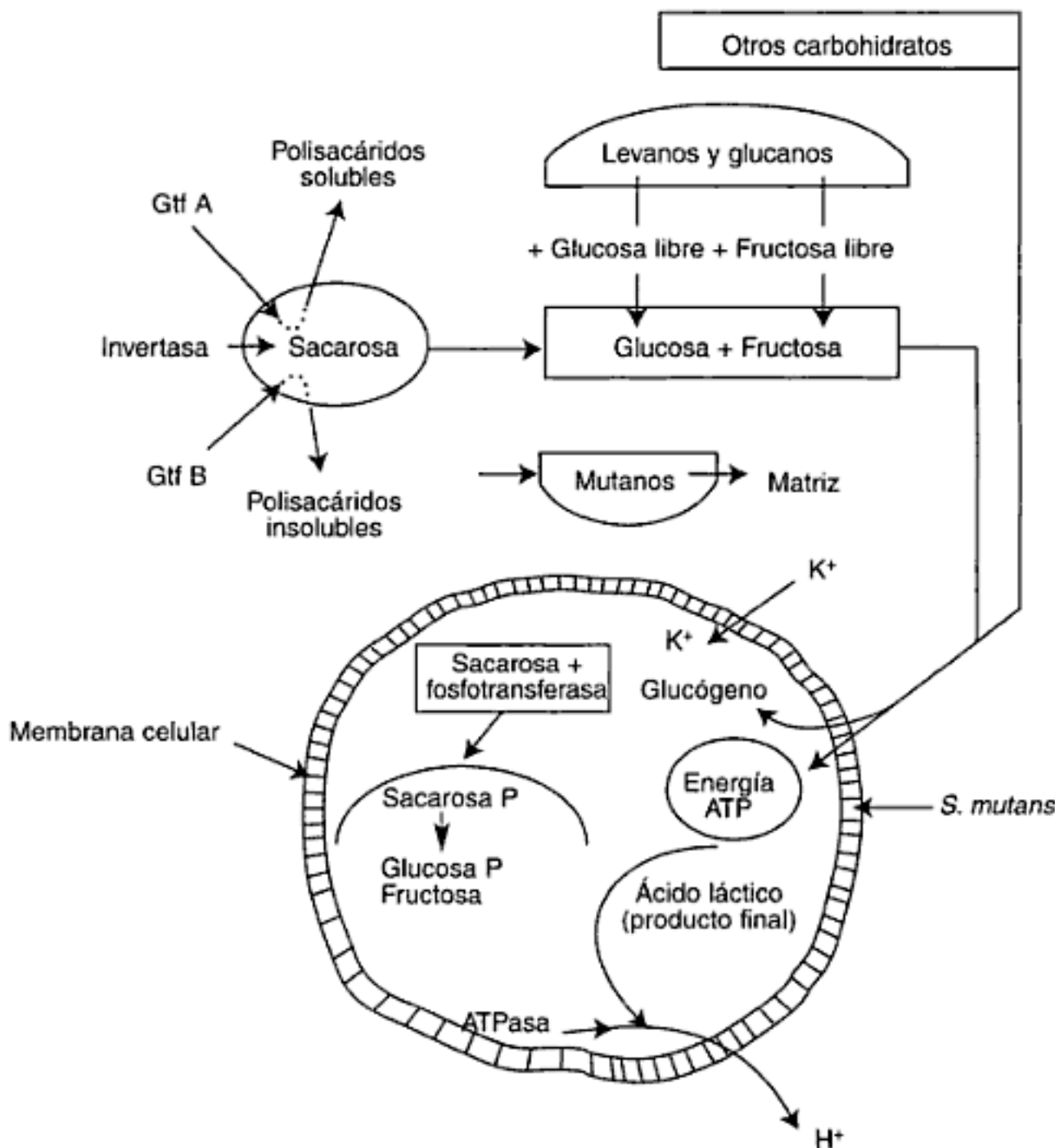


Fig. 19-2. Metabolismo de la sacarosa.

debe a enzimas extracelulares (glucosiltransferasas-[Gtf] y fructosiltransferasas-[Ftf]) que parten la molécula de sacarosa en monosacáridos; los grupos glucosídicos y fructosídicos son transferidos a receptores de glucanos y fructanos, respectivamente.

Los **mutanos** son difíciles de degradar y más adhesivos, favorecen la unión a las proteínas fijadoras de las células, y estimulan los fenómenos de agregación y adhesión bacteriana.

S. mutans, *S. salivarius* y *A. viscosus* producen un polímero homofructosa o fructano a partir de la sacarosa que se denomina **levano**. Los levanos son fácilmente degradados por enzimas (levanasas), actúan como fuentes de reserva de energía, puesto que son sintetizados en períodos con excesos de nutrientes y catabolizados en períodos de escasez.

S. mutans posee una fructosiltransferasa extracelular que cataliza la reacción; queda glucosa libre como residuo. No hay correlaciones entre el fructano y la cariogenicidad.

La **enzima invertasa** libera glucosa y fructosa en el medio externo, y así estas hexosas se difunden al medio interno celular. También existe una invertasa intracelular (fig. 19-2).

Polisacáridos intracelulares

Una vez que la glucosa o la fructosa penetran en la célula, su destino es ser catabolizadas por la vía glucolítica.

Los excesos de azúcares derivan en un compuesto que almacena reservas de energía para ser utilizada en los momentos donde disminuye el aporte de nutrientes.

La formación de este polisacárido intracelular (PI) está encadenada con la vía glucolítica y los niveles celulares de ATP (fig. 19-2).

LOS MICROORGANISMOS

Los principales microorganismos relacionados con la caries dental son aquellos que participan en:

- a) el desarrollo inicial de la enfermedad;
- b) la progresión de las lesiones establecidas.

a) Desarrollo inicial de la enfermedad. Numerosos estudios han demostrado que *S. mutans* está relacionado con la biopelícula de placa cariogénica y asociado con su comienzo; al mismo tiempo, en la saliva hay un aumento significativo de estos microorganismos antes de la formación de la caries dental. *S. sobrinus* es la segunda especie de importancia.

b) Progresión de las lesiones establecidas. Se incluyen *Lactobacilos spp.*, *Actinomyces spp.* y otros microorganismos, capaces de sobrevivir y proliferar en medios ácidos, tal el caso de un hongo, *Candida albicans*. Generalmente, estos microorganismos se ven favorecidos por las condiciones del medio promovidas por los estreptococos del grupo *mutans* (véase cap. 18).

Otros estreptococos

S. salivarius, *S. mitis*, *S. anginosus*, *S. gordonii*, *S. oralis* y *S. sanguinis* se consideran como estreptococos no *mutans* con baja capacidad para descender el pH (véase cap. 18).

Lactobacillus

Los lactobacilos presentan poca afinidad por las superficies dentarias y, en consecuencia, **no se los implica en el comienzo de las caries de esmalte**; no obstante, son los primeros relacionados con el avance de las caries de dentina; actúan principalmente como "invasores secundarios" que aprovechan las condiciones ácidas y la retentividad existente en la lesión cariosa.

Especies de Actinomyces

Los microorganismos del género *Actinomyces* poseen la capacidad de formar **levanos** a partir de la sacarosa; los levanos representan un elemento de nutrición más que de adherencia (véanse caps. 18 y 21).

Factores de virulencia de los microorganismos relacionados con caries dental

Tornan patogénicos y de relevancia en el inicio y progresión de la caries dental a microorganismos autóctonos de la cavidad bucal.

Streptococcus mutans: entre sus factores de virulencia se destacan:

a) **Acidogénesis:** rápidamente se metabolizan los azúcares por la vía glicolítica, así se alcanza el pH crítico de desmineralización de 4,5-5,5.

S. mutans presenta distintos mecanismos enzimáticos para el transporte de azúcares al interior de la célula. Éstos sufren un proceso de fermentación y producción de ácidos, principalmente ácido láctico. Por lo menos se reconocen catorce sistemas de transporte fosfotransferasas (PTS) específicos para diferentes azúcares y cinco sistemas de transporte del tipo ABC (ATP Binding cassette), incluido un sistema de metabolismo de múltiples azúcares (MSM) (véase factor sustrato).

b) Acidofilia: la acidificación del biofilm, producto de la fermentación de carbohidratos, favorece el crecimiento de *S. mutans* y al mismo tiempo inhibe el de microorganismos comensales, como *S. sanguinis*; *S. gordonii* y *S. oralis*; esta situación es posible gracias a la presencia de la bomba traslocadora de protones H⁺ que posee *S. mutans* en su membrana celular, denominada F₀ F₁ ATPasa, la cual funciona para mantener el pH intracelular por debajo de 7,5. También posee un sistema enzimático que le permite utilizar aminoácidos para convertir protones H⁺ en aminos.

Sólo *S. mutans* puede producir ácidos, a partir de la fermentación de los azúcares, a pH 4,4; desarrollar pH 4,8 y sobrevivir bajo estas condiciones de estrés al percibir rápidamente los cambios ambientales, lo que le permite modificar su fisiología.

Un sistema de comunicación intercelular del tipo *quorum sensing* permite la secreción de péptidos, feromonas, de suma importancia en el desarrollo de la biopelícula. En tanto otras dos feromonas fueron identificadas en el genoma de *S. mutans* y le permiten participar en el sistema de comunicación intraespecies.

c) Síntesis de polisacáridos extracelulares (PEC): *S. mutans* producen y segregan al medio

tres tipos de enzimas, exoenzimas, denominadas glucosiltransferasas (Gtfs, Gtf B, Gtf C, Gtf D, catalizadoras de mutanos y dextrano).

Los glucanos solubles (reservorio extracelular de azúcares) son hidrolizados por otras enzimas denominadas **dextranasas**.

d) Síntesis de polisacáridos intracelulares: la célula almacena glucógeno que, ante la falta de ingreso de azúcar por vía exógena con la dieta, puede metabolizarse por la acción de la glucogenofosforilasa. Ante un incremento de productos intermediarios de la glucólisis.

e) Síntesis de proteínas, lectinas, que ligan el glucano (*Glucan-binding proteins* o **Gbps):** Los *S. mutans* producen por lo menos cuatro tipos distintos de Gbps.

Gbps A, Gbps B, Gbps C y Gbps D. Son proteínas extracelulares, normalmente asociadas a su pared celular; serían importantes para el acúmulo de *S. mutans* en presencia de sacarosa al formar un puente que une las superficies celulares de los microorganismos a la matriz extracelular de polisacáridos (figs. 19-3 y 19-4).

Estudios genéticos y bioquímicos de cada una de ellas han probado que sus funciones biológicas son variables.

La Gbps B jugaría un papel importante en el mantenimiento de la integridad de la pared celu-

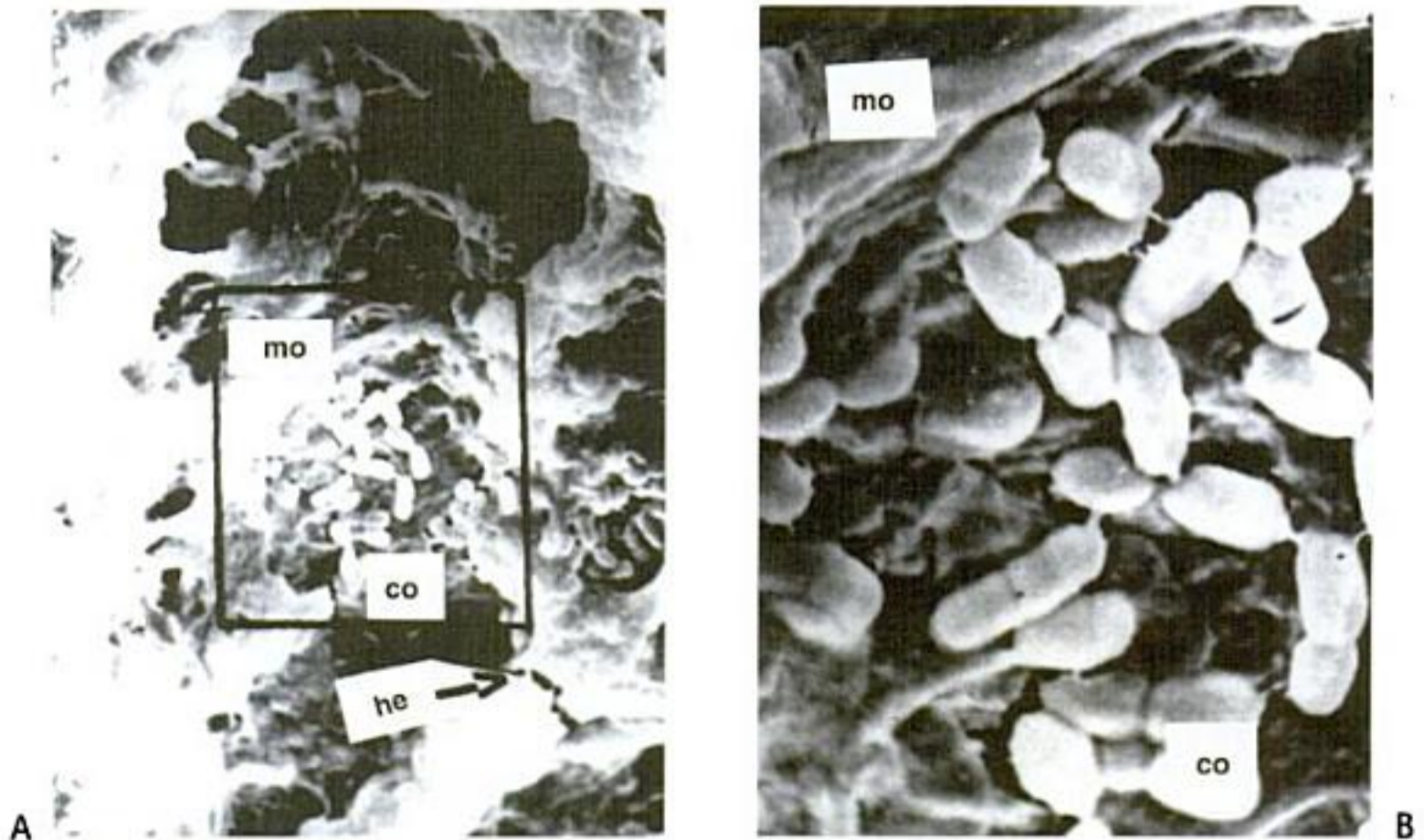


Fig. 19-3. Matriz de polisacárido extracelular y *S. mutans* coagregados. **A.** Microscopía electrónica de barrido (MEB) X3000. Placa formada in vitro por *S. mutans* en medio base para dextrano. **B.** *S. mutans* coagregados por uniones lectinacarbhidrato y proteína-proteína (imagen ampliada de A). mo, matriz orgánica (polisacárido extracelular); co, cocos; he, hebras de polisacáridos.



Fig. 19-4. Producción de polisacárido extracelular in vitro por *S. mutans* cepa 6715. Medio de cultivo agar *Mitis salivarius*.

lar e influenciaría la habilidad de los genotipos del *S. mutans* para desarrollar en los biofilms aun bajo situaciones de estrés osmótico.

- f) Adhesinas:** *S. mutans* presenta adhesinas de superficie de la familia de adhesinas Spa también llamada de antígeno I / II (SpaP, Pac o P1); participan en el proceso de adherencia a las glicoproteínas salivales y a otros microorganismos.
- g) Proteína asociada a la pared celular (Wap A):** le permite adherirse a las caras libres de las piezas dentarias y participar en la adherencia dependiente de la sacarosa, pero su papel en la cariogénesis no es claro.
- h) Bacteriocinas:** *S. mutans* produce diversas bacteriocinas, **mutacinas**, que participan de un proceso de competición microbiana. Las mutacinas inhiben a los microorganismos comensales competidores, como *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. oralis*, *S. sobrinus* y aún a otras especies de estreptococos del grupo *mutans*. Juegan un papel importante, en la transferencia de cepas más o menos virulentas.
- S. sobrinus*:** presenta características de virulencia semejantes a *S. mutans*, sin embargo, los mecanismos moleculares involucrados parecen ser distintos. Se desconoce el motivo por el cual *S. sobrinus* es menos prevalente en humanos que *S. mutans*.
- a) **Acidogénesis:** a diferencia de *S. mutans*, no fermenta rafinosa, melibiosa y sorbitol.
- b) **Acidofilia.** *S. sobrinus* es extremadamente tolerante a los ácidos, posee una bomba traslocadora de protones (ATPasa F0 F1, pero sin el aumento de la actividad de los sistemas PTS:
- c) **Producción de PEC.**
Glucanos: al igual que *S. mutans*, *S. sobrinus* secreta diferentes glucosiltransferasas (Gtfs).

Se reconocen cuatro: Gtfl, GtfS, GtfU y GtfSi, las que sintetizan glucanos con diferentes proporciones de uniones alfa 1-6 (glucanos solubles: Gtfl) y alfa 1-3 (glucanos insolubles: GtfSi). Las GtfS y GtfSu catalizan la síntesis de glucanos solubles e insolubles al poseer ambos tipos de uniones.

Fructanos: *S. sobrinus* no sintetiza fructanos, pero produce fructanasas, que desdoblan los fructanos provenientes de *S. mutans* y *S. salivarius*, presentes en la matriz extracelular.

- d) **Síntesis de proteínas, lectinas, que ligan al glucano (Gbps, glucan-binding proteins):** se describe la presencia de una proteína con estas características, pero su función biológica es poco conocida.
- e) **Adhesinas:** presenta la adhesina Ag I/II y la adhesina Dei (*dextranase inhibitor*) identificada en *S. mutans*. **Las adhesinas de *S. mutans* y *S. sobrinus* tienen menor afinidad para los componentes de la película adquirida, cuando son comparadas con las adhesinas de otros colonizadores primarios, como *S. gordonii*.**

Lactobacillus spp.: en los lactobacilos, los factores de virulencia más notables son su acidogenicidad y aciduricidad, sustentados por la presencia de la **ATPasa traslocadora** de protones, cuya síntesis es regulada y aumenta la cantidad de enzimas de la membrana celular cuando el citoplasma comienza a acidificarse. Tiene un valor óptimo a pH 5; en cambio, para *S. mutans* el pH ideal es 6.

Para los microorganismos no acidúricos, como *Actinomyces viscosus*, *S. salivarius* y *S. sanguis*, el pH óptimo de traslocación de protones es de 7.

Actinomyces: los factores de cariogenicidad de los *Actinomyces* pueden ser resumidos de la siguiente manera:

1. Pueden formar ácidos distintos del láctico, como ácido butírico y ácido propiónico.
2. Producen polisacáridos a partir de la sacarosa.
3. Poseen fimbrias que les permiten adherirse y agregarse con otras especies.

EL FACTOR TIEMPO

El tiempo y el sustrato

Para iniciar el proceso carioso la presencia de carbohidratos fermentables en la dieta no es suficiente, sino que además éstos deben permanecer durante un tiempo determinado en la cavidad bucal.

El tiempo de desmineralización del esmalte por la ingesta de soluciones azucaradas se estima en aproximadamente veinte minutos y corresponde a la recuperación del pH por sobre el nivel crítico de disolución del cristal de apatita (fig. 19-1).

Ventana de la infección

Los microorganismos acidogénicos comienzan a establecerse en la cavidad bucal desde los primeros meses de vida del individuo. Esta colonización tiene un momento clave que se inicia en el decimonoveno mes de vida y que se prolonga hasta los treinta y un meses; es lo que Newbrum ha llamado "ventana de la infección", un período durante el cual el niño es inoculado por las cepas de *S. mutans* de su madre (fig. 19-5).

La inoculación puede estar relacionada con la erupción de los primeros molares temporarios, lo que provee de superficies oclusales retentivas para la colonización.

En otras circunstancias, como un consumo excesivo de azúcares o el contacto frecuente con personas portadoras de microorganismos cariogénicos, constituyen un factor inicial para que el niño adquiera la biota cariogénica aún antes de los 19 meses de vida. Otros factores pueden adelantar el momento de la adquisición del *S. mutans*; uno de ellos puede ser el grado de maduración inmunológica del hospedador.

Métodos que utilizan sondas de DNA indican que las superficies retentivas del dorso de lengua pueden funcionar como un reservorio para una posterior colonización en las piezas dentarias.

Así, si se controlara la infección de la mujer embarazada (transmisión vertical), la de las personas que conviven con el niño (transmisión horizontal) para continuar con el control del niño en estado de salud sería posible evitar o retardar este proceso.

Estudios longitudinales realizados por Caufield y cols. demostraron el momento de mayor riesgo en la ventana de la infectividad: entre los 1,5 y 2,5 años de edad. Después de los 2 a 5 años de edad, las posibilidades de adquirir los microorganismos son menores. Los niños que no adquirieron los microorganismos hasta ese momento no lo hacen, a menos que muchos factores se modifiquen para que así suceda.

El principal objetivo es actuar sobre la microbiota cariogénica en períodos bien determinados relacionados con el momento previo a su establecimiento en la cavidad bucal.

FORMACIÓN Y DESARROLLO DE LA BIOPELÍCULA DE PLACA DENTAL

S. mitis, *S. oralis* y *S. sanguinis* presentan adhesinas de alta afinidad con los componentes de la película salival adquirida. Al mismo tiempo la capacidad que poseen para la producción de IgA1-proteasas **no producidas por *S. mutans***, le confieren una ventaja ecológica adicional para comportarse como *Streptococcus* pioneros en el establecimiento de la comunidad biótica que constituye la biopelícula.

Los grupos de bacterias se comportan como comunidades estructuradas en tres dimensiones, con canales por los que fluye el transporte de sustratos, productos de deshecho y moléculas claves para su organización. La matriz que sostiene la biopelícula es una mezcla de polisacáridos, proteínas y DNA secretado por las células; estas sustancias permiten que el biofilm funcione como sistema.

El metabolismo y las propiedades de difusión de la biopelícula son influenciadas por distintos factores, entre los que se describen: la calidad y la cantidad de saliva del medio bucal, los hábitos dietéticos, la higiene y el contenido de fluoruros, los distintos gradientes de sustancias químicas, y las condiciones de oxigenación, entre otros (véase cap. 18).

La adaptación a los cambios en el interior de la biopelícula incluye la regulación de una amplia cantidad de genes; entonces los microorganismos son capaces de optimizar sus propiedades fenotípicas a un medio ambiente particular.

La formación de la biopelícula se produce en respuesta a las condiciones ambientales. Existen sistemas de fosfotransferencia (*two-component*

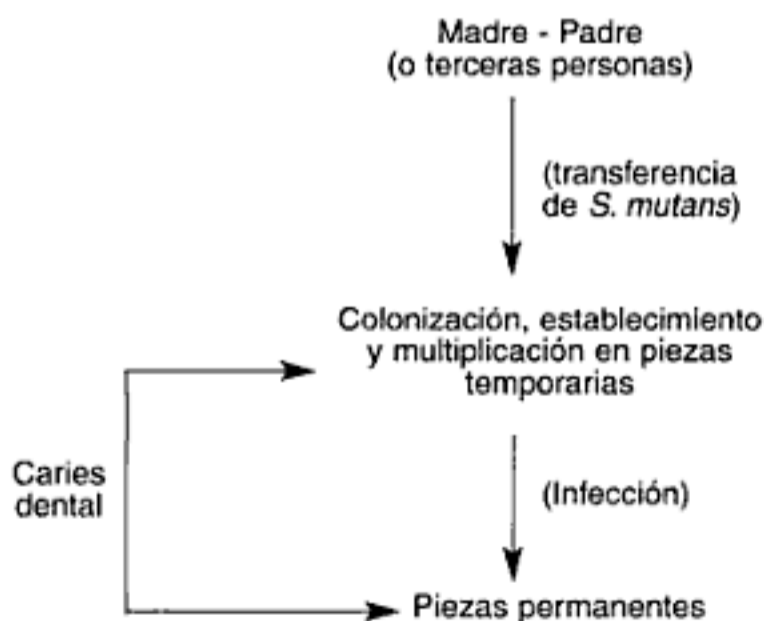


Fig. 19-5. Ventana de la infección.

systems) que transmiten la señal ambiental al interior de la bacteria para adecuar la expresión de genes a la nueva situación ambiental.

El equilibrio fisiológico entre las piezas dentarias y la biopelícula puede alterarse dependiendo de las características del medio bucal. El pH bajo, causado por la fermentación de los carbohidratos, selecciona la población de cepas acidógenas y acidúricas, tales como los estreptococos del grupo *mutans* (*S. mutans*, *S. sobrinus* y lactobacilos (véase cap. 18). Las bacterias en el interior de la biopelícula son metabólicamente activas y causan fluctuaciones del pH. Estas fluctuaciones pueden llevar a una pérdida de minerales de las piezas dentarias, cuando el pH desciende (<5,5) o ganancia de ellos, cuando el pH aumenta. Los resultados de estos procesos de desmineralización-remineralización pueden conducir a la disolución de los tejidos duros y a la formación de la lesión de caries.

El concepto actual de biopelícula sitúa al *S. mutans* en un papel que no corresponde con el de agente etiológico principal, sino que su aumento estaría relacionado con el cambio en el microambiente, producto de la enfermedad.

La progresión de la lesión de caries posee la capacidad de alterar el microambiente, modificando a su vez la biota local y la composición de la biopelícula; de este modo, se privilegia el desarrollo de taxones bacterianos acidogénicos y acidúricos.

Diversos autores consideran que la aparición del *S. mutans* es precedida generalmente por la proliferación de bacterias acidogénicas de diversos taxones.

Se ha descrito a la biopelícula como una estructura formada por dos matrices principales, a saber:

1. La capa salival o cutícula acelular adquirida.
2. La capa formada por microorganismos y polímeros extracelulares.

1. Cutícula acelular adquirida

La cutícula acelular adquirida se define como una biopelícula delgada, amorfa y electrodensa inmediatamente adyacente a la superficie del esmalte. El grosor varía de sitio en sitio, pero se ha estimado en 1 a 2 μm .

Composición

Numerosos estudios muestran que la película adquirida del esmalte se forma en no más de dos horas en una superficie dental limpia. Ésta se denomina "cutícula temprana" o película temprana, carece de bacterias y sus productos están for-

mados por proteínas y glucoproteínas. Esta película temprana muestra un alto contenido de treonina, serina y alanina, pero menos prolina que la saliva, lo que indica que se lleva a cabo una adsorción selectiva de los componentes salivales en la superficie dentaria.

En las cutículas las fosfoproteínas de la saliva participan en el proceso de remineralización-desmineralización, y así controlan la solubilidad de las superficies mineralizadas y previenen la formación del cálculo.

Mecanismos de formación

En la formación de la película interviene una combinación de fuerzas físico-iónicas, hidrófobas, de Van der Waals y, además, se detecta fijación de hidrógeno entre la superficie dentaria y los componentes orgánicos e inorgánicos de la saliva. El esmalte limpio tiene más grupos accesibles de fosfatos que iones de calcio. La adsorción de moléculas en esta superficie engloba la interacción de los grupos fosfato con los iones de calcio de la saliva para formar puentes de carga negativa (carboxil-fosfato-sulfato y ácido siálico).

Algunos microorganismos, producen una enzima, neuraminidasa, que separa los residuos de ácido siálico terminal en la cutícula temprana y la saliva para exponer productos que actúan como receptores para la adhesión de proteínas fijadoras (adhesinas) de otros microorganismos (véase cap. 18).

Algunas enzimas presentes en esta película, como las glucosiltransferasas, contribuyen a facilitar la adhesión de los microorganismos a la superficie dental.

Con el tiempo la película temprana sufre modificaciones y se transforma en una película tardía en la que se asocian componentes de la saliva, productos bacterianos y exudado gingival.

2. Capa formada por microorganismos y polímeros extracelulares

Son varias las fases que se tienen en cuenta para la formación de la biopelícula de placa dental cariogénica, a saber:

Colonización primaria

Una vez establecida la película adquirida, comienzan a depositarse, **colonizan**, las primeras poblaciones bacterianas. Este biofilm suele estar compuesto por 20-30 especies bacterianas distintas. Mientras el resto de los factores se mantienen constantes, las bacterias de la biopelícula se encuentran en equilibrio; caso contrario, se produ-

ce un desequilibrio (consumo de azúcares, bajo pH, mala higiene bucal) en la población bacteriana y se favorece el desarrollo de especies que estaban en bajo número (*S. mutans* y lactobacilos).

Colonizadores iniciales presentes en mayores proporciones: *Streptococcus* y *Actinomyces*.

Streptococcus: *S. sanguinis*, *S. oralis* y *S. mitis*.

En menores proporciones: *S. mutans* y *S. gordonii*.

Actinomyces: *A. naeslundii* y *A. viscosus*.

Los mecanismos que intervienen en la adhesión a la película adquirida son **interacciones físico-químicas** que comprenden:

- Un **mecanismo reversible**: mediante fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas (*S. sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *S. mutans*)
- Un **mecanismo irreversible**: es el mecanismo de adhesión a la película adquirida donde participan las adhesinas microbianas y los receptores del hospedador (véase cap. 18).

Se han propuesto varios mecanismos para explicar la adsorción selectiva de las bacterias sobre la película, sobre otras bacterias o sobre biopelícula formada con anterioridad. La existencia de cargas negativas sobre las bacterias y las glucoproteínas tienden a dificultar la unión entre ambas. Los iones calcio presentes en la saliva pueden neutralizar estas cargas y actuar como puentes entre la película y las bacterias; se forman agregados de glucoproteínas-calcio-bacterias.

El papel de *S. mutans* en esta fase es variable, hay placas no cariogénicas en las que se los encuentra en bajo número o ausentes, en especial con poca sacarosa en el medio.

Los componentes salivales adsorbidos sirven como receptores para las proteínas de unión de *S. mutans*, mientras que las glucosiltransferasas (Gtf) y los glucanos adsorbidos refuerzan esa adherencia.

Un factor interesante son las **defensas específicas del hospedador**. Al estar presentes en la película anticuerpos naturales contra especies específicas realizarían uniones iniciales, selectivas, especialmente para receptores del *S. mutans*.

También se han descrito proteasas específicas producidas por *S. sanguinis* que inhibirían la acción antiadherente de las IgA (véase cap. 18).

Colonización secundaria: agregación interbacteriana

La biopelícula sufre modificaciones estructurales y aumenta en grosor y complejidad. En esta etapa se producen fenómenos de cohesión interbacteriana intraespecífica e intergenérica.

Coadhesión intraespecífica:

a) A través de los constituyentes de la saliva: *S. sanguinis*, *S. oralis*, *A. naeslundii*.

b) A través de los PEC (mutanos): *S. mutans* y *A. naeslundii* (figs. 19-3 y 19-4).

Coadhesión intergenérica: A través de los constituyentes de la superficie de las bacterias de diferentes géneros y especies asociados a fimbrias o fibrillas. Tal el caso de la agregación entre *A. naeslundii* y estreptococos orales, como *S. gordonii*, *S. mitis* y *S. mutans*.

Complejidad. Multiplicación y remodelación

Al principio la biopelícula está formada por cocos grampositivos, pero posteriormente se desarrolla una población compleja de otros cocos, bacilos y filamentos grampositivos.

Las condiciones acidogénicas creadas por los colonizadores primarios facilitan el desarrollo de especies diferentes (*Veillonella* y *Lactobacillus*), que prefieren un medio ácido para su desarrollo. Esta etapa permite la maduración bacteriológica y estructural.

En estas condiciones la biopelícula es un conglomerado bacteriano proliferante y enzimáticamente activo que está fuertemente adherido a la superficie dentaria y para persistir necesita energía que toma de los hidratos de carbono fermentables.

Los hidratos de carbono son desdoblados por la vía glucolítica; a través de esta vía la bacteria obtiene ATP; además se forma CO₂ y ácido láctico, y en menor proporción otros ácidos orgánicos, como ácido butírico, ácido acético, etc. Estos ácidos van a producir la desmineralización de los cristales de hidroxiapatita y así se iniciará el proceso cariioso.

Esta fase, que se inicia a las 48 hs, continúa indefinidamente. El número total de microorganismos permanece constante, pero la composición microbiana es más compleja.

Las encargadas de regular la expresión de genes, en relación directa con la concentración y la función de la comunidad microbiana que ocupa cada sitio, donde pueden desarrollarse caries, son las **moléculas autoinductoras** que conforman el sistema *quorum sensing*.

Cuando los microorganismos que forman la biopelícula cariogénica alcanzan un número suficiente (**masa crítica**), segregan los péptidos que, a pequeñas dosis, son identificados por receptores externos de las bacterias, lo cual les permite desarrollar factores de virulencia. Sobre la base de estas dosis de proteínas, las bacterias perciben cuándo aumenta

su concentración y determinan cuándo se encuentran en condiciones numéricas apropiadas y con la información genética necesaria para actuar como patógenas, agrediendo al hospedador. Este fenómeno constituye el fundamento del *quorum sensing*.

Junto con las señales químicas entre las distintas especies, suceden interacciones físicas específicas que contribuyen a la organización temporal y espacial de estas comunidades.

TIPOS DE CARIES SEGÚN SU LOCALIZACIÓN

El comienzo, la configuración y la progresión de las lesiones cariosas en cada una de las localizaciones dependen de diferentes factores y entre ellos podemos mencionar: a) los distintos microorganismos que conforman la biopelícula, y b) la anatomía y la histología dentaria que determinan las características de avance de la lesión (figs. 19-6, 19-7, 19-8, 19-9 y 19-10).

CARIES DE ESMALTE. PATOGENIA DE LA LESIÓN DE ESMALTE. MANCHA BLANCA

Caries de superficies libres

La lesión cariosa es el resultado de la desmineralización. El punto crítico para la desmineralización se encuentra en un pH de 5,5 o 5,6. Cuando las bacterias de la biopelícula disponen de sustratos adecuados, pueden producir con facilidad este medio ácido, mientras prosiguen con su actividad metabólica normal. Si disminuyen los niveles de carbohidratos, como se mencionó, pueden utilizar polisacáridos de reserva como dextranos y levanos extracelulares e intracelulares.

La primera manifestación clínica, **lesión**, de un **proceso** de caries de esmalte es la **mancha blanca**, que es la traducción de los cambios bioquímicos que ocurren en la interfase biopelícula-esmalte (figs. 19-6 y 19-7).

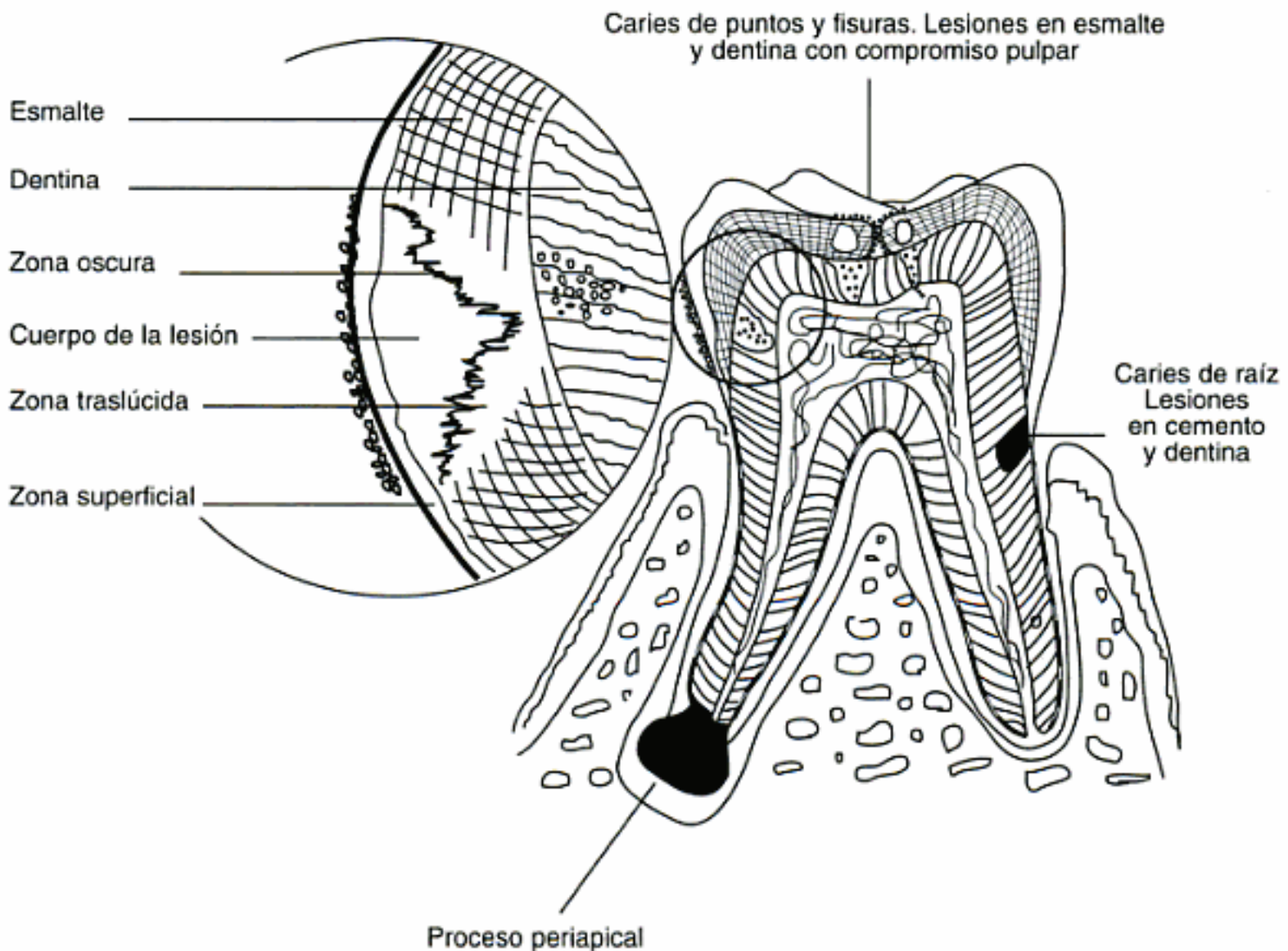


Fig. 19-6. Lesiones cariosas de esmalte y cemento, avance en dentina.



Fig. 19-7. Mancha blanca cavitada.

Las superficies dentarias en las que se observa esta lesión son las superficies libres vestibular y lingual, en las caras proximales por debajo del punto de contacto y en las paredes que limitan los puntos y fisuras.

El esmalte está opaco sin translucidez. La mancha blanca presenta etapas de desmineralización seguidas de etapas de remisión o remineralización. Cuando el proceso de remineralización es mayor que el de desmineralización, la caries es reversible.

Debido a la permeabilidad del esmalte, en la mancha blanca no cavitada hay pasaje de sustancias ácidas y toxinas hacia la dentina, y posteriormente hacia la pulpa; se forma una capa de dentina irritativa y los fibroblastos segregan más fibras colágenas que circunscriben el proceso inflamatorio.

Una vez que los hidrogeniones del biofilm pasan al interior del esmalte por los espacios que quedan, la apatita subsuperficial se disuelve y sus constituyentes difunden hacia la interfase biofilm-diente en forma de fosfato de calcio ($\text{PO}_4 \text{Ca}^{++}$) y oxidrilos (OH^-).



Fig. 19-8. Caries de puntos y fisuras. Se observan lesiones en el esmalte (premolar) con destrucción del esmalte y avance en la dentina (molar).

Estas sustancias permitirían mantener la viabilidad de los microorganismos de la biopelícula cuando la capacidad *buffer* de la saliva ya no pudiera beneficiarlos.

El resto de los iones precipita en la capa superficial, que por este motivo tiene una escasa pérdida mineral (de alrededor del 1%).

En la zona subsuperficial la pérdida mineral es mayor (del 25%), motivo por el cual dicha zona se denomina **cuerpo de la lesión**.

A continuación, en la periferia del cuerpo de la lesión se presenta una **zona oscura de remineralización**. Cuando la difusión ácida no es intensa, los poros se cierran por un proceso de remineralización y hay una pérdida de minerales del 2-4%.

El grosor de la zona oscura revela así la eficacia del proceso de remineralización. La zona de **avance de la lesión** se encuentra por fuera de la zona oscura con una pérdida mineral del 1 al 5%.

Si no se prevé un cambio en el medio bucal (cambios de la dieta, higiene, fluoruros caseinatos) que favorezca la remineralización, la dentina se verá más o menos afectada.

La morfología dentaria determina las características de propagación de la caries de esmalte. En las superficies libres se produce una desmineralización en forma de cono truncado con base hacia la superficie exterior (fig. 19-6).

Caries de superficies proximales

Esta localización, requiere la presencia de un biofilm bien adherente. El ambiente es de una anaerobiosis relativa.

En actividad las caries proximales presentan un alto porcentaje de *Streptococcus* del grupo *mutans*, *Lactobacillus*, *Actinomyces naeslundii* y *A. viscosus*. También se encuentran *A. israelii* y especies de *Veillonella*.

Caries de puntos y fisuras

Los puntos y las fisuras constituyen un nicho ecológico en sí mismos con características propias de retención.

En ellos se encuentra *S. sanguinis* (un porcentaje del 95%) en las lesiones iniciales; al descender el pH aumenta el número de microorganismos acidúricos y acidogénicos, como *S. mutans*, *L. acidophilus* y *L. casei*.

La lesión avanza como un cono de base interna de acuerdo con la posición de los elementos estructurales del diente y se producen dos lesiones, manchas blancas, en las paredes (figs. 19-8 y 19-9).



Fig. 19-9. Imagen radiográfica del caso de la figura 19-6. Se observa esmalte íntegro en el premolar e importante pérdida de sustancia en el molar.

Caries de dentina

La biopelícula, la anatomía y la histología dentaria determinan las características de avance de la lesión (figs. 19-6, 19-7, 19-8 y 19-9).

La comunidad microbiana presente en caries de dentina varía de acuerdo con la ubicación de la lesión (cuadro 19-1).

Patogenia de la lesión en dentina

De acuerdo con la localización inicial de la caries de esmalte, ésta adopta diferentes formas de propagación (fig. 19-6).

Cuando la caries alcanza el límite amelodentinario, avanza a un ritmo mayor que en el esmalte. La presencia de los túbulos dentinarios ayuda a que los microorganismos invadan la pulpa, con la continuación de la evolución natural de la enfermedad (figs. 19-7, 19-8 y 19-9).

Caries de cemento (raíz)

En la caries de raíz estarían implicados no sólo microorganismos acidófilos y acidogénicos, sino también proteolíticos.



Fig. 19-10. Caries de raíz.

Cuadro 19-1. *Microorganismos aislados de caries de dentina*

Microorganismos	Frecuencia de aislamiento caries:	
	Superficiales	Profundas
Streptococcus <i>S. mutans</i> <i>S. sobrinus</i> <i>S. intermedius</i> <i>S. sanguinis</i>	Alta	Baja-Moderada
Actinomyces <i>A. naeslundii</i> <i>A. israelii</i> <i>A. odontolyticus</i>	Alta	Moderada
Eubacterium <i>E. saburreum</i> Pseudomonas <i>P. alactolyticus</i> (<i>ex E. alactolyticum</i>)	Alta	Alta
Lactobacillus <i>L. casei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. minutum</i>	Alta	Alta
Propionibacterium <i>P. acness</i> <i>P. avidum</i> <i>P. lymphophilum</i> <i>P. propionicum</i>	Moderada-Alta	Alta
Veillonela spp.	Baja	Baja
Peptostreptococcus <i>P. anaerobius</i> Micromonas <i>M. Micro (ex P. micros)</i>	Baja	Baja

Adaptado de Love et al, 2002.

Las distintas especies bacterianas se aíslan con una frecuencia alta, moderada o baja (cuadro 19-2). *Actinomyces naeslundii*, *Capnocytophaga spp.* y *Prevotella spp.* poseen intervención en el proceso de descomposición del cemento y de la dentina.

La composición y la disposición estructural del cemento guardan una estrecha relación con la progresión de la enfermedad (fig. 19-6).

El cemento radicular no se encuentra expuesto al medio bucal. Para que sufra una lesión cariosa es necesario que se produzca alguna alteración del periodonto marginal, que permita la exposición de este tejido a los agentes cariogénicos.

La caries de cemento generalmente se inicia en el límite amelodentinario y afecta el cemento acelular, de superficie irregular. Al establecerse un proceso de caries de raíz el cemento se pierde en bloques, ya que la desmineralización sigue las líneas incrementales (fig. 19-10).

Cuadro 19-2. Microorganismos aislados de caries de raíz

Especies	Frecuencia de aislamiento
Streptococcus	
<i>S. sanguinis</i>	Baja-Alta
<i>S. mitis</i>	
<i>S. mutans</i>	
<i>S. sobrinus</i>	
Actinomyces	
<i>A. naeslundii</i>	Alta
<i>A. odontolyticus</i>	
<i>A. viscosus</i>	
Pseudomonas spp	
e.g., <i>P. alactolyticus</i> (ex <i>E. alactolyticum</i>)	Baja-Moderada
Propionibacterium	
e.g., <i>P. acnes</i>	Baja-Moderada
Lactobacillus	
<i>L. casei</i>	Baja
Fusobacterium	
<i>F. nucleatum</i>	Baja

Adaptado de Ozakiet et al., 1994 Love et al. 2002.

Existen varios factores que se han asociado con la caries cementaria: edad, recesión gingival, enfermedad periodontal, mala higiene oral, pH crítico, enfermedades que disminuyen el flujo salival, como la diabetes y el síndrome de Sjögren o consumo de determinados fármacos (véase factor hospedero).

El pH crítico en la superficie del cemento es de 6,7, mientras que en el esmalte es de 5,5; esta diferencia es resultado de la mayor solubilidad de los minerales de los tejidos de la raíz respecto de los minerales del esmalte.

En el cemento, igual que en el esmalte, la caries incipiente presenta una capa superficial relativamente bien mineralizada. Sin embargo, la pérdida del contenido mineral subsuperficial es mucho mayor que en la mancha blanca del esmalte y se denomina **mancha traslúcida**.

PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS DE ACTIVIDAD DE CARIES

En la práctica clínica es posible medir el nivel de *Streptococcus* del grupo *mutans* y de especies de *Lactobacillus* en saliva mediante métodos comerciales sencillos.

El nivel de infección es importante. Por ejemplo, un nivel de 3.000 UFC/mL de *Streptococcus mutans* es suficiente para colonizar fosas y fisuras profundas; en cambio, es necesario un recuento de 43.000 UFC/mL en saliva para que se establezca una infección en superficies libres.

Si bien estos valores no son absolutos, brindan una guía para el tratamiento de una infección producida por *S. mutans*, según el número de piezas totales que posea el individuo.

Hay procedimientos que puede realizar el práctico general para detectar y modificar la magnitud de una infección debida a *S. mutans*. Estas pruebas se realizan con un medio de cultivo selectivo o agar mitis salivarius-sacarosa-bacitracina que permite sólo el desarrollo del microorganismo investigado. En general, poseen un bajo grado de sensibilidad, pero relativamente alta especificidad; por lo tanto, no son útiles para predecir qué pacientes desarrollarán caries, basándose en los niveles de *S. mutans* en saliva, pero son eficaces en predecir qué pacientes con bajos niveles de *S. mutans* tendrán bajo desarrollo de la enfermedad.

Las pruebas más empleadas en la actualidad son Cariescreen® y Dentocult®.

El método Cariescreen® permite efectuar la lectura e interpretación de los resultados de acuerdo con la densidad de las colonias desarrolladas, que se compara con una tabla de valoración.

En esta tabla se presentan tres niveles de riesgo:
Riesgo bajo: menos de 250.000 UFC/mL de saliva.
Riesgo alto: más de 500.000 UFC/mL de saliva.
Riesgo moderado: entre 250.000 y 500.000 UFC/mL de saliva.

Cuadro 19-3. Recuento de Streptococcus del grupo mutans y especies de Lactobacillus a partir de la saliva.

Riesgo	Recuento de <i>S. mutans</i> en la saliva UFC/mL		Recuento de especies de <i>Lactobacillus</i> en la saliva UFC/mL
	Cariescrem®	Dentocult S®	Dentocult LB®
Bajo	0-10 ⁴ 5-10 ⁴ 10 ⁵	0-1 <10 ⁵	<10 ³
Medio	2,5-10 ⁵ 5,0-10 ⁵	2 10 ⁵ -10 ⁶	10 ³ -10 ⁴
Alto	>10 ⁶	3 >10 ⁶	>10 ⁴

El sistema Dentocult SM® presenta una tabla de lectura con valores 0-1-2-3. Un valor entre 0-1 indica la presencia de menos de 100.000 UFC/mL, el valor 2 indica el punto intermedio entre 0-1 y 3, y un valor de 3 puntualiza más de 1.000.000 UFC/mL.

El recuento de *Lactobacillus* en saliva puede realizarse con el sistema Dentocult LB®.

La densidad de crecimiento de colonias de *Lactobacillus* en la lámina inoculada, comparada con la tabla de densidad establecida, se expresa en "unidades formadoras de colonias por mililitro de saliva" (UFC/mL).

Un resultado igual o mayor de 10.000 UFC/mL de saliva equivale a un recuento alto y se corresponde con la presencia de "caries activas en progresión".

Un recuento medio es aquel que arroja entre 1.000 y 10.000 UFC/mL de saliva. Menos de 1.000 UFC/mL se considera un recuento bajo.

El diagnóstico no debe ser sólo microbiológico, sino que éste debe acompañar al diagnóstico clínico; los pacientes con caries activas son portadores de una enfermedad infecciosa.

La evaluación bacteriológica anterior y posterior al tratamiento de la caries dental como una enfermedad infecciosa (inactivar lesiones abiertas y disminuir el nivel de infección de la cavidad bucal mediante el uso de antimicrobianos) permitirá saber si se disminuyó o no el nivel de riesgo del paciente (cuadro 19-3).

Resumen

La caries dental es una enfermedad infecciosa en cuyo comienzo y progresión intervienen microorganismos que conforman la biota habitual autóctona de la cavidad bucal.

En la etiología multifactorial para caries dental se incorporan, el nivel socioeconómico, el estilo de vida y el estado de salud general, que a su vez inciden en los hábitos de higiene oral y en el estado del sistema inmune del hospedador.

La función de la saliva es determinante en relación con el flujo, la viscosidad, el tipo de inmunoglobulinas, la presencia de fluoruros y el efecto tampón del pH.

Los microorganismos más relacionados con el inicio y la progresión de caries dental son *Streptococcus* del grupo *mutans* (*S. mutans* y *sobrinus*) especies de *Lactobacillus* y *Actinomyces*.

A partir del contacto con nutrientes exógenos (sacarosa) estos microorganismos se relacionan con la película adquirida que cubre las piezas dentarias a través de una matriz de polisacáridos extracelulares y conforman un sistema denominado biopelícula de placa dental en el que crecen, maduran, se multiplican y generan ácidos como producto del metabolismo de los carbohidratos.

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

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

Si el biofilm no es eliminado, en un hospedador susceptible, con microorganismos cariogénicos y un sustrato hidrocarbonado, los hidrogeniones llegan a la capa subsuperficial del esmalte; la lesión se traduce clínicamente como "mancha blanca". En este momento el proceso de desmineralización supera al de mineralización y si la lesión no se trata, se torna irreversible.

Siguiendo la historia natural de la enfermedad, caries, los microorganismos y sus productos afectan al tejido dentinario.

En las lesiones incipientes de la dentina, la microbiota hallada es similar a la de la biopelícula cariogénica y a la de las lesiones del esmalte; en las lesiones avanzadas las condiciones del medio cambian y aparece un predominio de microorganismos más proteolíticos.

Con el uso de técnicas de cultivo adecuadas, es posible aislar *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Arachnia* y *Bifidobacterium*, entre otros.

Cuando la enfermedad periodontal deja cemento expuesto a la acción de agentes cariogénicos, puede producirse una caries primaria de raíz; ésta se inicia como una *mancha traslúcida*,

manifestación equivalente a la mancha blanca del esmalte que, al igual que ésta, posee capacidad para remineralizar, lo que permite que se detenga el avance de la lesión.

Los microorganismos involucrados en las caries de raíz son acidogénicos, acidófilos y proteolíticos, anaerobios facultativos e incluso anaerobios estrictos, de acuerdo con el avance de la lesión; entre ellos se pueden mencionarse *S. mutans*, *S. sanguinis*, especies de *Lactobacillus* y *A. viscosus*.

Actualmente el odontólogo general, mediante pruebas sencillas realizadas a partir de la saliva, puede determinar el número de UFC/mL de *S. mutans*, un microorganismo relacionado con el inicio de la caries dental, y de especies de *Lactobacillus* asociadas con la progresión de la caries.

La evaluación bacteriológica debería realizarse antes de planificar el tratamiento, al dar el alta al paciente y en los sucesivos controles trimestrales o semestrales, según corresponda de acuerdo con el nivel de riesgo cariogénico inicial.

El éxito es factible si se considera que la caries dental es una enfermedad infecciosa, cuyo inicio y progresión pueden controlarse si se reconocen todos los factores de riesgo involucrados en su etiología.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué géneros y especies microbianas se asocian con la etiología de las caries de esmalte en superficies libres?
2. ¿Cuál es el mecanismo de adherencia que utiliza *S. mutans* en la placa cariogénica?
3. ¿Cuáles son los distintos estadios en la formación de la placa cariogénica que asienta en superficies libres?
4. ¿Qué influencia tiene la dieta en la formación de las caries dentales?
5. ¿Qué acción ejercen las enzimas bacterianas sobre la sacarosa?
6. ¿Qué microorganismos están involucrados en la progresión de las caries de dentina y qué factores del medio son propicios para su desarrollo?
7. ¿Qué condiciones del hospedero son necesarias para que se produzca la caries de raíz?
8. ¿Qué microorganismos están involucrados en la etiología de la caries de raíz?
9. ¿Cuál es el número de UFC de *S. mutans* por mL de saliva, que posee un paciente con alto riesgo cariogénico?
10. ¿Cuál es el número de UFC de *Lactobacillus* por mL de saliva que posee un paciente con alto riesgo de progresión de la caries?

CARIES DENTAL ANTIMICROBIANOS Y VACUNAS PARA SU CONTROL

2º PARTE

ANTIMICROBIANOS Y VACUNAS PARA LA PREVENCIÓN DE LA CARIES DENTAL

Mabel Marcantoni

Contenidos

Inhibición química del biofilm cariogénico. Cargas y superficies libres de energía. Hidrofobicidad. Adhesinas e interacciones específicas. Polisacáridos extracelulares. Agentes antimicrobianos de elección. Gluconato de clorhexidina. Fluoruros. Nuevas estrategias preventivas. Terapias de reemplazo. Péptidos anticariogénicos. Péptidos antibacterianos. Inmunidad y caries dental. Problemas asociados con la inmunización. Nuevas estrategias en vacunas.

Objetivos

- Justificar el uso de antimicrobianos en el control químico de la placa cariogénica.
- Citar los sitios en los que deberían actuar los antimicrobianos para inhibir la formación de placa bacteriana cariogénica.
- Enumerar las características de un antimicrobiano ideal.
- Mencionar los antimicrobianos de elección para el control de los microorganismos asociados con la etiología de la caries dental.
- Describir el mecanismo de acción del gluconato de clorhexidina.
- Describir el mecanismo de acción de los fluoruros.
- Enumerar las variables que regulan el mecanismo de acción de los fluoruros.
- Citar los elementos del sistema inmune que aparecen en la saliva y el exudado gingival.
- Explicar el momento en que debería aplicarse una vacuna anticaries, en caso de que existiera.
- Enumerar y describir las dificultades que se plantearían ante la aplicación masiva de una vacuna anticaries.

INTRODUCCIÓN

Una gran variedad de agentes antimicrobianos se utilizan experimentalmente para el control de los microorganismos bucales relacionados con la formación de la biopelícula de placa dental.

Los más probados han sido los antibióticos, los detergentes catiónicos, las enzimas, los halógenos, los iones metálicos, los extractos de vegetales y los compuestos fenólicos.

El uso de sustancias antimicrobianas para la prevención de las caries dentales puede resultar beneficioso siempre que se las considere como adyuvantes de un control mecánico de la biopelícula por medios físicos (cepillado, uso de hilo de

seda dental), los que facilitan su desestructuración. Deben tenerse en cuenta otros factores ya mencionados.

La cavidad bucal no puede ser esterilizada y no deben provocarse cambios en su ecología que permitirían el desarrollo de microorganismos oportunistas.

Si la caries dental se considera como una enfermedad infecciosa, la posibilidad de prevenirla por métodos inmunológicos no está lejos.

La presencia de componentes de la inmunidad humoral y mediada por células en la cavidad bucal, vehiculizados por la saliva y el exudado gingival, permite vislumbrar la utilización de la inmunidad activa y pasiva en la prevención de la caries dental.

INHIBICIÓN QUÍMICA DEL BIOFILM CARIOGÉNICO

El control químico de la placa organizada resulta poco efectivo ante la resistencia que opone esta verdadera biopelícula a la acción de los antimicrobianos. Una eliminación exagerada de la microbiota bucal puede determinar la colonización y la proliferación de microorganismos oportunistas, tales como *Candida* y coliformes. Todavía no se ha logrado el antimicrobiano ideal (cuadro 19-4).

Existen verdaderos "talones de Aquiles" sobre los que los antimicrobianos deberían actuar para poder inhibir la formación del biofilm que origina la caries dental. Ellos son:

1. Cargas y superficies libres de energía.
2. Hidrofobicidad de los microorganismos.
3. Adhesinas e interacciones específicas.
4. Polisacáridos extracelulares.

Cargas y superficies libres de energía

Tanto las bacterias como las superficies de la cavidad bucal poseen cargas eléctricas.

Las fuerzas repulsivas encontradas en una interfase constituyen la electrocinética o "potencial Zeta". En las bacterias este potencial puede ser determinado por medio de su movilidad electroforética.

Los "potenciales Zeta" de las bacterias aumentan con una hidrofobicidad decreciente, en tanto que las bajas cargas de superficie y la alta hidrofobicidad favorecen la adherencia bacteriana.

Un agente que al ser liberado localmente puede aumentar la carga en las bacterias o de las superficies bucales o ambas en teoría puede reducir la adherencia bacteriana.

Los preparados con **estaño** y **aminofluoruros** aplicados localmente pueden reducir la energía libre de superficie de un esmalte limpio y de la

Cuadro 19-4. Características de un agente antiplaca ideal

- a) Debe eliminar rápidamente la placa organizada
- b) Debe inhibir la formación de nueva placa
- c) No debe ser tóxico
- d) No debe poseer efectos secundarios adversos
- e) Debe tener características organolépticas aceptables
- f) Debe poseer sustantividad
- g) No debe ser inactivado por productos de los microorganismos o del hospedador
- h) No debe originar resistencia bacteriana
- i) Debe alterar en forma mínima la microbiota asociada con la salud
- j) No debe ser carcinogénico

película adquirida, pero poseen baja sustantividad; además, la propiedad antimicrobiana del estaño no es clara.

Hidrofobicidad

La adherencia de algunas especies bacterianas bucales a las piezas dentarias es un ejemplo práctico del fenómeno de hidrofobicidad.

S. sanguinis y *S. mitis* se consideran especies con alta hidrofobicidad que se adhieren fuertemente a películas salivales experimentales; en cambio, *S. mutans* y *S. salivarius* se consideran de baja hidrofobicidad.

Un importante colonizador de las superficies bucales, como *S. sanguinis*, posee en su pared celular aminoácidos como cadenas hidrófobas; por lo tanto, los agentes que pueden alterar estas cadenas, como el catión **litio (Li⁺)** y el ion tiocianato, reducen la adherencia de *S. sanguinis* a la película adquirida en un 81% y un 94%, respectivamente.

El **tiocianato de sodio** interfiere a nivel de las interacciones receptor-adhesina, posiblemente por solubilizar las proteínas bacterianas presentes en la saliva que participan en la adhesión a la hidroxapatita (véase cap. 18).

Adhesinas e interacciones específicas

Los estreptococos de la cavidad bucal, *S. oralis*, *S. mitis* y *S. sanguinis*, son los primeros colonizadores; las adhesinas, que pertenecen a la superficie de las células bacterianas, interactúan en sitios específicos de la biopelícula con los llamados receptores.

Podría controlarse esta adherencia por medio de análogos de las adhesinas capaces de bloquear receptores (véase cap. 18).

Por ejemplo, la adherencia de *S. mutans* a proteínas de la película adquirida puede ser impedida por compuestos que contengan un grupo amino primario, como galactosamina, manosamina y espermina.

Polisacáridos extracelulares

La adherencia de *S. mutans* es posible gracias al glucano extracelular insoluble (mutano); éste puede superar fuerzas repulsivas y adherirse fuertemente al microorganismo. Muchas sustancias apuntan a ellos para lograr su control.

Las dextranasas producidas por el hongo *Penicillium foniculosum* fueron utilizadas para el control de la placa en hámsteres. En seres humanos redujeron el peso seco de la biopelícula, pero no impidieron su formación.

El Dilmopinol, un aminoalcohol de bajo peso molecular, que posee una significativa sustantividad y marcada acción antiplaca, demostró que actúa sobre los dextranos en la matriz extracelular al bloquear la síntesis, reducir la viscosidad y también inhibir selectivamente al dextrano producido por los estreptococos. La actividad antimicrobiana de Dilmopinol es relativamente débil en términos de concentración inhibitoria mínima.

AGENTES ANTIMICROBIANOS DE ELECCIÓN

Algunos trabajos realizados in vitro revelan la efectividad de los agentes antimicrobianos hidrófobos. Sin embargo, los resultados obtenidos in vivo son menos halagüeños.

Se observa con mayor interés el uso de los agentes que actúan directamente contra mecanismos de adherencia específica o interfiriendo sobre el metabolismo bacteriano; tal es el caso del **gluconato de clorhexidina** y los **fluoruros** en sus distintas presentaciones.

Gluconato de clorhexidina

*Mecanismo de acción.
Actividad antibacteriana*

El gluconato de clorhexidina, una bisbiguanida catiónica que posee actividad antibacteriana, baja

toxicidad y una fuerte capacidad para adherirse a las mucosas, a la película adquirida y a los microorganismos, tiene un amplio espectro de actividad contra microorganismos grampositivos y gramnegativos, contra levaduras y, según algunos investigadores, contra ciertos virus lipófilos.

La actividad antimicrobiana varía según su concentración: en bajas concentraciones es bacteriostático, mientras que en altas concentraciones es un bactericida eficaz.

Las células de los microorganismos asociados con la etiología de la caries dental se encuentran cargadas negativamente, y las moléculas catiónicas del gluconato de clorhexidina son rápidamente adsorbidas a los grupos fosfato de dichas células bacterianas; esto altera la integridad de la membrana celular de las bacterias, lo que determina que la droga sea atraída hacia el interior de la célula, donde aumenta la permeabilidad de ésta y permite que los componentes de bajo peso molecular, como los iones potasio, sean liberados al exterior (véase cap.19, primera parte).

En bajas concentraciones el efecto del gluconato de clorhexidina es reversible y los cambios estructurales producidos en la membrana citoplasmática son menores que los observados cuando las concentraciones son altas. El aumento de la concentración del gluconato de clorhexidina provoca proporcionalmente más daño, hasta llegar a producir la coagulación y la precipitación del citoplasma bacteriano por la formación de complejos fosfatados; esta situación es irreversible.

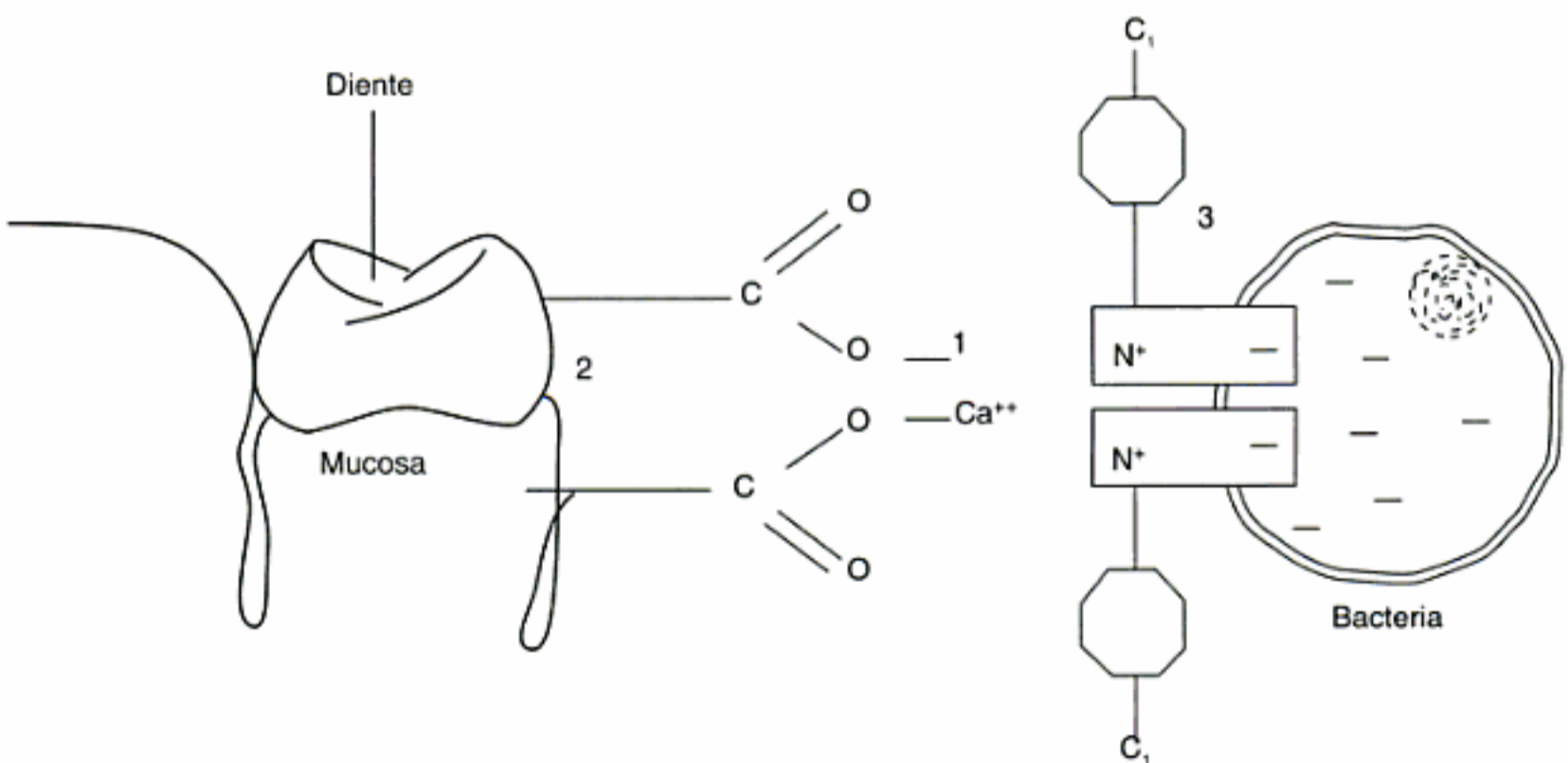


Fig. 19-11. Mecanismo de acción del gluconato de clorhexidina. 1. Desplazamiento del ion calcio de la interfase película-bacteria. 2. Adhesión a la película salival adquirida de dientes y mucosa. 3. Adhesión a las bacterias grampositivas.

A un pH fisiológico la clorhexidina es una molécula dicatiónica (1,6, di [4-clorofenil-diguanida] hexano), con la carga positiva distribuida sobre los átomos de nitrógeno a ambos lados de los puentes de hexametil y, por lo tanto, posee la capacidad de adsorberse sobre superficies con cargas eléctricas negativas, tales como las paredes celulares bacterianas, lugar donde ejerce su actividad bacteriostática o bactericida.

Esta droga también se une a diferentes superficies dentro de la cavidad bucal, tales como los dientes, la mucosa y la película salival (fig. 19-11).

Después de un buche con clorhexidina, la saliva muestra actividad antibacteriana por más de 5 horas y su persistencia en las superficies bucales suprime las bacterias salivales por 12 horas. Al adherirse a superficies bucales de distintas características, éstas actúan como reservorios, a partir de los cuales se libera lentamente y así prolonga su acción antimicrobiana. Esta propiedad se conoce como **sustantividad** (fig. 19-11).

Acción antibiofilm

El proceso de inhibición de la formación de la placa comienza con la adhesión del gluconato de clorhexidina a las superficies antes mencionadas. Sin embargo, un exceso de sacarosa en el medio por la presencia de una biopelícula madura y organizada disminuye el poder antimicrobiano del gluconato de clorhexidina al no ser éste capaz de penetrar en las paredes celulares de las bacterias del biofilm.

La formación de la biopelícula puede inhibirse por tres mecanismos:

1. Interferencia en la formación de la película adquirida. Al bloquear los grupos ácidos de las glucoproteínas salivales disminuye el grado de adsorción de éstas a la superficie del esmalte.
2. Alteración de la adherencia de las células bacterianas a la película adquirida por competencia con el ion calcio.
3. Precipitación de factores de aglutinación en saliva y desplazamiento del calcio en la matriz de la biopelícula.

El gluconato de clorhexidina es extremadamente eficaz contra los microorganismos asociados con la etiología de la caries dental y se presenta en distintas formas para su aplicación clínica: barnices al 10%, geles al 1%, colutorios al 0,12% y pastas dentales al 0,02%.

Fluoruros

Acción sobre la microbiota de la cavidad bucal

Cuando se investiga un agente antimicrobiano para tratar una infección, uno de los objetivos más importantes que se busca es la selectividad (no afectar al hospedador).

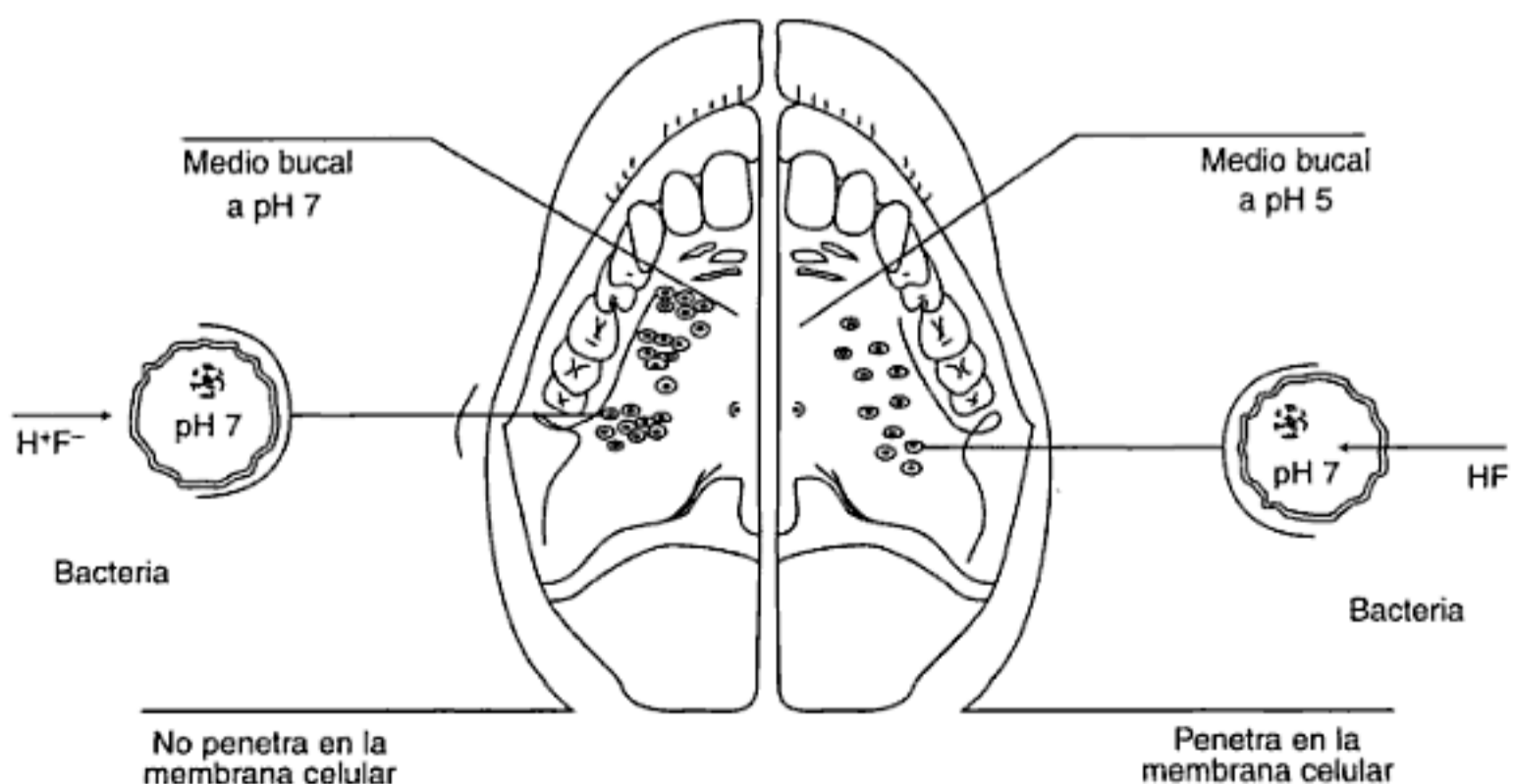


Fig. 19-12. Acción antibacteriana de los fluoruros.

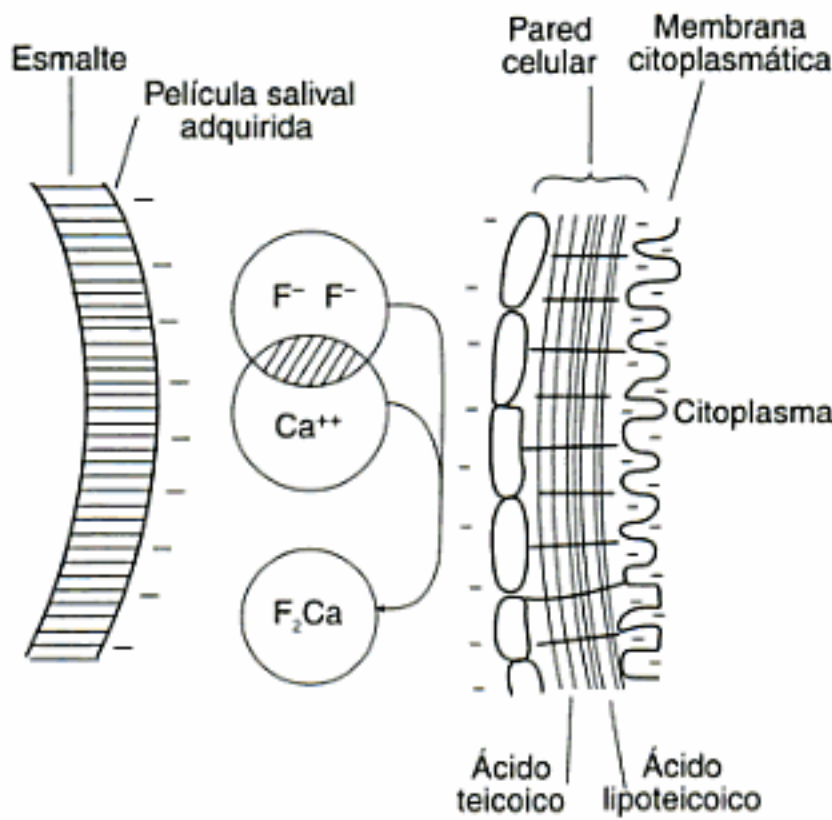


Fig. 19-13. Acción antiadherente de los fluoruros.

Los fluoruros actúan sobre la célula bacteriana y alteran su crecimiento **al inhibir el metabolismo energético celular**. Esta acción está influida por el pH del medio: la eficacia será mayor cuanto más bajo sea el pH o cuanto mayor sea la concentración del ion F^- .

Con un pH de 7 en el medio el fluoruro de hidrógeno está altamente ionizado (F^-H^+), lo que dificulta su acción antibacteriana; se necesitan 12.000 ppm de flúor para penetrar en las membranas de microorganismos, tales como *S. mutans*. En cambio, en soluciones con un pH de 5, el fluoruro de hidrógeno está sin ionizar (FH) y bastan 5 a 7 ppm para actuar contra *S. mutans*.

El fluoruro de hidrógeno cruza la membrana y se introduce en el citoplasma, el que posee un pH neutro (pH 7). Ahí la molécula se disocia en sus formas iónicas. El F interfiere sobre el ciclo de Krebs al combinarse con la enzima enolasa y, de este modo, comienza a alterarse el metabolismo intracelular de los hidratos de carbono. De esta

manera, disminuye la producción de ácido láctico (figs. 19-12 y 19-13).

La síntesis de macromoléculas, como el glucógeno, se detiene al disminuir la disponibilidad del sustrato primario para la reacción, glucosa 6-fosfato.

Otro mecanismo de acción de los fluoruros es la **inhibición de la "adherencia bacteriana"**. Esta propiedad varía con la concentración: entre 1 y 30 ppm inhibe la formación de la pellicula adquirida al modificar las cargas electrostáticas de la superficie del esmalte y altera la adsorción de los aminoácidos de la saliva, mientras que entre 200 y 500 ppm se une al calcio de la saliva (**quelación**) e impide que éste actúe como puente en la colonización inicial a la pellicula adquirida por parte de los microorganismos (fuertemente electronegativos).

Para la aplicación tópica de fluoruros en la práctica clínica se dispone de distintas presentaciones: colutorios, geles, barnices y combinados en dentífricos (cuadro 19-5).

De acuerdo con variables, tales como la concentración, el pH, el tipo de fluoruro empleado y la frecuencia de su aplicación, los fluoruros pueden inhibir el desarrollo de los microorganismos cariogénicos a través de distintos mecanismos, a saber:

1. Depresión enzimática y, como consecuencia, una reducción de la producción de ácido y de la síntesis de polisacáridos.
2. Inhibición de la adsorción de aminoácidos en la pellicula salival.
3. Desadsorción de albúminas.
4. Inhibición de la adherencia bacteriana por competencia en la captación de Ca^{++} con el ácido lipoteicoico de la pared celular de las bacterias grampositivas (fig. 19-13).

NUEVAS ESTRATEGIAS PREVENTIVAS

Con el conocimiento de la biopellicula la nueva estrategia consiste en buscar la posibilidad de blo-

Cuadro 19-5. Fluoruros. Acción antimicrobiana. Transferencia clínica

	Concentración	pH	Acción	Presentación y uso	
Fluoruro de sodio (FNa)	500 ppm (0,05%)	7	Antiadherente	Pastas	Uso diario
			Antienzimático	Colutorios	
	2.000 ppm (0,2 %)	7	Bactericida	Colutorio	Quincenal supervisado
	10.000 ppm 1%	5,6	Bactericida Remineralizante	Gel (40 noches)	

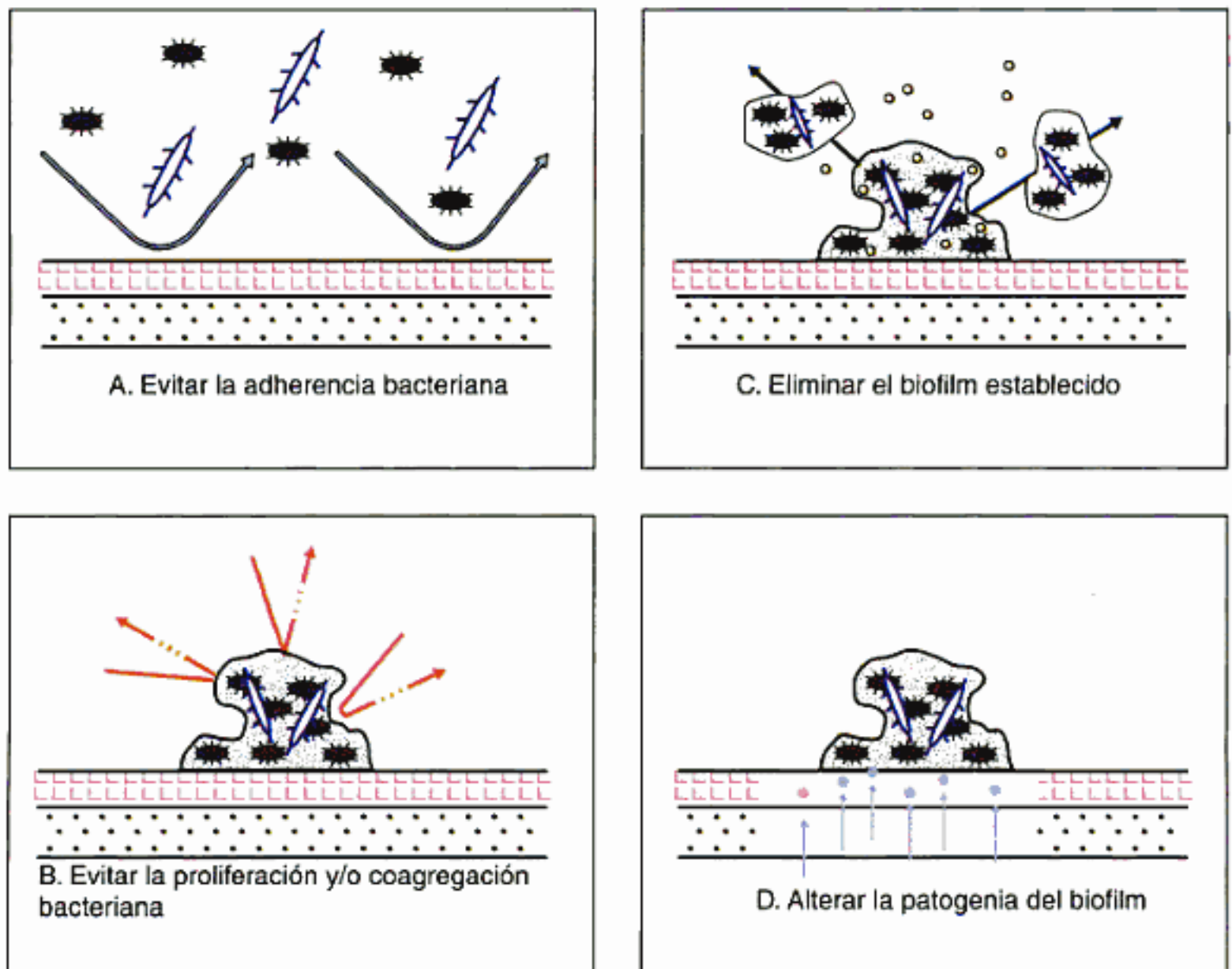


Fig. 19-14. Estrategias para alterar la biopelícula. Adaptado de Serrano-Granger y Herrera D, 2005.

quear el sistema de péptidos intercelulares que estas especies usan para comunicarse y regular su expresión genética (*quorum sensing*).

De esta manera, será posible manipular la composición de los biofilms de la cavidad bucal y modular su virulencia (fig. 19-14).

Terapias de reemplazo

Los antisépticos utilizados en forma de enjuagatorios bucales actúan de un modo inespecífico reduciendo los niveles de todos los microorganismos de la cavidad bucal sin distinguir entre bacterias benéficas y dañinas.

En la actualidad se busca restablecer el equilibrio en la comunidad microbiana, eliminando sólo aquellos microorganismos que poseen factores de virulencia para el hospedador.

En la Universidad de Florida, Hillman y col. han desarrollado la denominada "terapia de reemplazo"; en este caso, cepas autóctonas de *S. mutans* son reemplazadas por una cepa avirulenta.

Por ingeniería genética obtienen cepas que en lugar de producir ácido láctico a partir de la enzima

lactato dehidrogenasa codifican genéticamente a los microorganismos con otra enzima denominada *Zymomonas mobilis* etanol dehidrogenasa, lo que le permite producir etanol en lugar de ácido láctico.

El producto obtenido, un péptido antibiótico, se denomina mutacina 1140 y es letal para la mayoría de las cepas de *S. mutans*.

Se promueve la transmisión horizontal de bacterias genéticamente modificadas, en forma de colutorios, usando cepas auxotróficas en humanos.

Péptidos anticariogénicos

Se está desarrollando una tecnología que tiende a la prevención de caries intentando el aumento de la concentración de calcio y fosfato, los mayores componentes del esmalte dental.

Los productos lácteos, como la leche y el queso, pueden prevenir la caries dental; las distintas investigaciones han demostrado que este efecto se debe a la proteína caseica de los productos lácteos.

Las enzimas de la cavidad bucal producen péptidos a partir de la proteína láctea. Existe un grupo

de péptidos, llamados fosfopéptidos caseicos (CPP), que estabilizan el calcio y el fosfato, conservándolos en una forma amorfa soluble que no precipita, conocida como ACP.

Así el calcio y el fosfato del esmalte, habitualmente insolubles, en presencia de estos péptidos permanecen solubles y biológicamente disponibles.

El complejo: péptido, calcio y fosfato llega a la cavidad bucal en forma de chiclets, pastas dentífricas o colutorios; los péptidos se ligan a la superficie de los dientes a la biopelícula, a las bacterias, a los tejidos blandos y dentina proporcionando un depósito de calcio y fosfato biodisponibles y solubles en la saliva y en las superficies dentarias. El fosfato de calcio amorfo (ACP) se libera del complejo de fosfopéptidos caseicos (CPP) cuando el pH desciende.

El nanocomplejo CPP-ACP previene la desmineralización y promueve la remineralización del esmalte al aumentar los niveles de calcio y fosfato en la biopelícula.

En la Universidad de Melbourne, Australia, Reynolds y cols. consiguieron producir, en el laboratorio, el complejo CPP-ACP a base de caseína láctea y concentrado de tripsina pancreática (*Pancreatic Trypsin Novo* - PTN).

Péptidos antibacterianos

Dentro de los péptidos bioactivos, derivados de la leche bovina, se encuentra el péptido antimicrobiano denominado *Kappacin*, el que inhibe la adhesión del *S. mutans* cuando se desarrolla en una biopelícula. En estudios previos, este producto ha resultado ser efectivo, lo cual le otorga un valor predictivo como agente antimicrobiano del biofilm para ser usado en la cavidad bucal.

INMUNIDAD Y CARIES DENTAL

El tratamiento de la caries dental como una enfermedad infecciosa en la que *S. mutans* desempeña un papel importante abriría la posibilidad de prevenirla por métodos inmunológicos.

La relación entre IgG-IgA e IgG-IgM puede ser de importancia al activar mecanismos de defensa contra la caries dental. Algunos estudios recientes realizados en primates indican que la IgA y la IgM pueden competir con los efectos protectores de la IgG o interferir sobre ellos.

Se han utilizado varios preparados de *S. mutans*, por lo general del "serotipo c" con células muertas, microorganismos vivos y derivados de la pared celular de los microorganismos. Los preparados parten de dos antígenos de la pared celular denominados proteínas I y II o A y B. Otros anti-

genos son derivados de enzimas, como la glucosiltransferasa.

La IgA secretoria (IgAs) total está aumentada en la saliva de los individuos sin caries; mientras que se detecta baja cantidad de IgAs (específica).

La IgG y la IgM séricas contra *S. mutans* aumentan en los individuos con caries activas y su nivel desciende cuando las lesiones se inactivan o cuando la pieza se extrae.

La IgG y el componente C3 del complemento presentes en la saliva pueden opsonizar a *S. mutans* y hacer que el microorganismo sea fagocitado por los neutrófilos polimorfonucleares (PMN) que provienen del surco gingival.

Problemas asociados con la inmunización

Las dudas que se plantean ante la aplicación masiva de vacunas contra la caries dental se centran en:

1. *Tipo de antígeno a utilizar*: en la fase experimental se han utilizado la célula bacteriana, los hidratos de carbono de superficie, las proteínas de la pared celular y las glucosiltransferasas; estas últimas aparentemente serían las más eficaces, pero al mismo tiempo las más costosas.
2. *Vías de administración de elección*: esto determina qué tipo de inmunoglobulina se producirá. La inmunización local, en las cercanías de las glándulas salivales, y la administración por vía oral producen como respuesta altos niveles de IgAs, mientras que la vía parenteral favorece la aparición de IgG sérica y, en menor grado, IgM e IgA. Se investigan los efectos de una vía de administración combinada. Los estudios de inmunización en seres humanos se basan en la utilización de la vía oral, con células de *S. mutans* y, más recientemente, con sus paredes celulares, asociadas con la enzima glucosiltransferasa. Estas últimas pruebas demostraron la aparición de anticuerpos IgAs específicos en saliva y un retardo en la acumulación de *S. mutans*. La utilización de la vía oral (y la aparición de la respuesta a través de la IgA secretoria) es considerada más oportuna que la inoculación sistémica, porque no provoca reacción cruzada en el músculo cardíaco o con otros tejidos por antígenos estreptocócicos.
3. *Eficacia de corto y largo plazo*.
4. *Inocuidad*: es posible que la falta de seguridad sea el mayor problema con el que se enfrentan los investigadores, porque la caries dental es una enfermedad que no pone en peligro la vida del individuo y existen otros métodos eficaces e inocuos, además de experimentados, para reducir su incidencia.

Nuevas estrategias en vacunas

Desde hace dos años los investigadores aumentaron sus estrategias para la utilización de inmunización activa y pasiva estimulados en parte por la posibilidad de recurrir a vacunas producidas por ingeniería genética.

Inmunización activa

La inmunización activa incluye: uso de péptidos sintéticos de *S. mutans*, unión de antígenos de *S. mutans* con subunidades de toxinas del cólera, fusión de genes de *S. mutans* con *Salmonella* avirulentas y sistemas de liberación de liposomas.

Los péptidos sintetizados químicamente ofrecen ciertas ventajas respecto del uso de pared celular o enzimas extracelulares de origen proteico, porque no generan reacciones con los tejidos del hospedero, si se selecciona adecuadamente la secuencia de péptidos.

La inyección de péptidos sintéticos obtenidos a partir de proteínas superficiales de *S. mutans* en encía de monos induce la producción de anticuerpos protectores en líquido gingival y saliva.

El uso de un péptido sintético derivado de la enzima glucosiltransferasa procedente de *S. mutans* como una vacuna oral en ratas provoca una inhibición de la función enzimática. Una de las limitaciones de la inmunización oral es la rápida alteración de las proteínas y péptidos por parte de las enzimas digestivas intestinales. Solamente una pequeña proporción de la vacuna puede ser procesada por el GALT, un paso crítico en la generación de la respuesta de anticuerpos de la mucosa.

Ciertos estudios demuestran la capacidad de las bacterias para adherirse a las células intestinales por ellas mismas; al unir la proteína o antígeno peptídico con una unidad no tóxica de toxina colérica se posibilita una efectiva supresión de la colonización por *S. mutans* y una reducción de las caries en las ratas.

La toxina colérica se une a células linfoides y funciona como un excelente adyuvante al inducir la respuesta inmune.

Algunas especies de *Salmonella* atenuadas también han demostrado ser un efectivo vector de vacunas. Las técnicas de recombinación genética usadas para unir genes de proteínas de superficie de *S. mutans* con cepas de *Salmonella* avirulentas han demostrado respuestas inmunes excelentes.

El uso de liposomas para administrar las vacunas es otra posibilidad en la preparación de éstas. Los liposomas son vesículas microscópicas y cerradas compuestas por una doble membrana fosfolípídica muy similar a la membrana celular.

Se ha demostrado experimentalmente en ratas

que el uso de liposomas duplica la eficacia de una vacuna administrada por vía oral: la reducción de las caries pasa de un 40% al 80% (cuadro 19-6).

Inmunización pasiva

La introducción de anticuerpos estimulados en la cavidad bucal es un medio de protección contra la caries dental.

La validez de este principio fue establecida alrededor de veinte años atrás en experimentos con monos en los que la aplicación de anticuerpos monoclonales directamente sobre las piezas dentarias redujo la colonización por parte de *S. mutans* y disminuyó notablemente su establecimiento.

La inmunización pasiva incluye el **uso de plantas transgénicas**. El material genético puede ser intercambiado por fertilización cruzada.

Se encontró una IgA secretoria en plantas de tabaco; este anticuerpo demostró ser funcional contra *S. mutans* y capaz de producir aglutinación de las células.

Dado que se sabe que la IgA secretoria puede actuar sobre superficies mucosas y es el anticuerpo dominante en la cavidad bucal, puede aportar considerable protección en la inmunización pasiva contra las caries.

Lehner y col., miembros del Guy's Hospital de Londres, han desarrollado una nueva inmunización pasiva contra *S. mutans* utilizando la adhesina Spa/II para producir un anticuerpo monoclonal a partir de células esplénicas murinas. Los genes que codifican el anticuerpo monoclonal fueron insertadas en plantas de tabaco. El anticuerpo monoclonal obtenido se adhiere específicamente a *S. mutans* e interfiere con su habilidad para colonizar en la biopelícula mientras permite la adhesión de otras especies. Esta tecnología está siendo probada.

Otros ensayos se están llevando a cabo con la introducción de anticuerpos formados en otros animales (gallinas) para intentar incorporarlos en diversos preparados de uso habitual (cuadro 19-6).

Cuadro 19-6. Nuevos agentes de inmunización

Inmunización activa	Inmunización pasiva
a) Péptidos sintéticos de <i>S. mutans</i>	a) Anticuerpos monoclonales aplicados tópicamente
b) Antígenos de <i>S. mutans</i> acoplados a subunidades de toxina colérica	b) Leche y suero bovino inmune
c) Sistema de liberación de liposomas de cubierta	c) Anticuerpos de yema de huevo
	d) Anticuerpos de plantas transgénicas

Resumen

Los conceptos modernos en cuanto a la prevención de la caries dental deben tener en cuenta los siguientes factores:

- Los microorganismos se organizan en biopelículas, así se adhieren a las superficies dentales, contenidos en una matriz orgánica y organizados en comunidades, donde adquieren nuevos genes y expresan nuevas características o factores de virulencia.

- Se tiene conocimiento de los mecanismos mediante los cuales los microorganismos se adhieren a la película salival adquirida y entre sí para organizarse en biopelículas.

- Al crecer en forma sésil, las bacterias activan genes que proporcionan mayor resistencia frente a los antimicrobianos en comparación con las formas planctónicas.

- Si están organizadas en biopelículas, estarían protegidas por la matriz de exopolisacáridos frente a los antimicrobianos.

- Existe transferencia vertical y horizontal de *S. mutans*. Capacidad para colonizar las piezas temporarias y la transmisión a las piezas permanentes.

El conocimiento del mecanismo de formación y desarrollo de la biopelícula permite fijar estrategias para: evitar su formación o si logró formarse, eliminarla por medios físicos con la colaboración de los medios químicos (antimicrobianos).

Los antimicrobianos deberían actuar sobre uno o varios de los elementos involucrados en la adherencia bacteriana.

Entre los antimicrobianos el gluconato de clorhexidina demostró ser el más efectivo "in vivo" para producir una reducción significativa del número de *S. mutans* en pacientes con alto riesgo cariogénico, al ser usado en forma de barnices al 1 y 10%, geles al 1% o colutorios al 0,12%.

Los fluoruros pueden inhibir el desarrollo de las caries dentales mediante distintos mecanismos que consisten en depresión enzimática, inhibición de la adsorción de aminoácidos en la película salival, desadsorción de albúminas e inhibición de la adherencia bacteriana por quelación del calcio.

El hecho de considerar la caries como una enfermedad infecciosa abre la posibilidad de tratarla por métodos inmunológicos mediante la inmunización activa o pasiva.

Es posible que la falta de seguridad con respecto a reacciones cruzadas y los costos sean los mayores problemas que enfrentan los investigadores para la indicación del uso masivo de vacunas anticaries.

Hasta el momento la elección para el control de la caries dental considerada como una enfermedad infecciosa recae en el uso racional de antimicrobianos eficaces e inoocuos para el hospedador.

Recientes investigaciones han permitido el desarrollo de otros agentes (anticuerpos específicos, CPP-ACP y péptidos antibacterianos) que se perfilan como una posibilidad para adyugar con los fluoruros en la prevención de la caries dental.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué transferencia clínica le atribuye al conocimiento del mecanismo de formación de biopelícula de placa bacteriana?
2. ¿Cuál es el mecanismo de acción del gluconato de clorhexidina?
3. ¿De qué depende la acción antimicrobiana del gluconato de clorhexidina?
4. ¿Cuál es el mecanismo de acción de los fluoruros?
5. ¿En qué difiere el mecanismo antiadherente del gluconato de clorhexidina con respecto a los fluoruros?
6. ¿Cuáles son las variables que regulan el mecanismo de acción de los fluoruros?
7. ¿Cuál es el anticuerpo dominante en la cavidad bucal?
8. ¿Qué inmunógenos se utilizaron hasta el presente?
9. ¿Usted aplicaría masivamente una vacuna anticaries si pudiera hacerlo? Justifique su respuesta.
10. ¿Qué beneficio implicaría cambiar cepas nativas por otras obtenidas por ingeniería genética?

BIBLIOGRAFÍA

- Akihiro Y, Kuramitsu HK. Multiple *Streptococcus mutans* genes are involved in biofilm formation. *Appl Environ Microbiol*, 2002;68(12):6283-91.
- Baca García P, Liébana Ureña J. Microbiología de la caries dental. En: Liébana Ureña J. Microbiología oral. Madrid: Interamericana, 1995; pp.447-62.
- Banas JA, Vickerman MM. Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2003;14:89-99.
- Becker MR, Paster BJ, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol*, 2002;40:1001-9.
- Beighton D, Lynch E. Comparison of selected microflora of plaque and underlying carious dentine associated with primary root caries lesions. *Caries Res*, 1995;29:154-8.
- Bowen WH. Vaccine against dental caries. A personal new. *J Dent Res*, 1996;75(8):1530-33.
- Brex M. Strategies and agents in supragingival chemical plaque control. *Periodontology 2000*, 1997;15:100-8.
- Burne RA. Oral Streptococci products of their environment. *J Dent Res*, 1998;77: 445-52.
- Carlsson J. Microbial aspects of frequent intake of products with high sugar concentrations. *Scand J Dent Res*, 1989;97:110-4.
- Caulfield PW. Dental caries- a transmissible and infectious disease revisited: a position paper. *Pediatr Dent*, 1997;19:491-8.
- Caulfield PW, Dasanayake AP, et al. Natural history of *Streptococcus sanguinis* in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity. *Infect Immun*, 2000;68:4018-23.
- Caulfield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res*, 1993;72:37-45.
- Chhour KL, Nadkarni MA, et al. Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries. *J Clin Microbiol* 2005;43:843-49.
- Carke JK. On the bacterial factor in the etiology of dental caries. *Br J Exp Pathol*, 1924;5:141-7.
- Cvitkovitch D, Li YH, et al. Quorum sensing and biofilm formation in streptococcal infections. *J Clin Invest*, 2003;112:1626-32.
- Cross KJ, Huq NL, et al. Physicochemical characterization of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate nano-complexes. *J Biol Chem*, 2005;289:15362-15369.
- Dashper S, Reynolds E. Combating dental decay. *Microbiology Australia*, 2005;107-9.
- Dorransoro de Cattoni S. Procesos de desmineralización y remineralización del esmalte dental. *Rev Dent Chile*, 1996;87(1):23-36.
- Emilson CG. Potential efficacy of Chlorhexidine against mutans Streptococci and human dental caries. *J Dent Res* Emilson CG, Kindquist B, Wennerholm K. Recolonization of human tooth surfaces by *Streptococcus mutans* after suppression by Chlorhexidine treatment. *J Dent Res*, 1987;66(9):1503-508.
- Eans AS. Limitation of Koch's postulates. *Lancet*, 1977;ii:1277-78.
- Falkow S. Molecular Koch's postulates applied to microbial pathogenicity. *Rev Infect Dis*, 1988;10:S274- S276.
- Falkow S. What is a pathogen? *ASM News*, 1997;63:359-65.
- Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. *JADA*, 2000;131(7):887-89.
- Featherstone JDB. The continuum of dental caries.-Evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res*, 2004;83(Spec Iss C):C39-C42.
- Fejerskov O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol*, 1997;25:5-12.
- Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res*, 2004;38(3):182-91.
- Fredricks DN, Relman DA. Sequence-based identification of microbial pathogens: a reconsideration of Koch's postulates. *Clin Microbiol Rev*. 1996;9(1):18-33.
- Gómez Soler SS. El manejo del factor tiempo en cariólogía preventiva. *Revista de la Facultad de Odontología. Universidad de Valparaíso, Chile*, 1995; 1(5):225-27.
- Gronross L, Saarela J, et al. Mutacin production by *Streptococcus mutans* may promote transmisión of bacteria from mother to child. *Infect Immun*. 1998;66:2595-2600.
- Hanada N, Katayama T, et al. Four different types of glucans synthesised by glucosyltransferases from *Streptococcus sobrinus*. *Microbios*, 1993;73:23-35.
- Hatta T, Tsuda K, et al. Passive immunization against dental plaque formation in humans: effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies (igY) specific to *streptococcus mutans*. *Caries Res*, 1997;31(4):268-74.
- Herrera Mendoza MT. Biofilm, infección, resistencia y tratamiento. *Nova. Publicación Científica*, 2004;2(2):1-10.
- Jones C. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontology 2000*, 1997;15:55-62.
- Keller L, Surette MG. Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. *Nature Reviews Microbiology*. 2006;(4):240-58.
- Keyes PH. The infections and transmissible nature of experimental dental caries. Finding and implications. *Arch. Oral Biol*, 1960;1:304-20.
- Kidd EAM, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*, 2004;83(Spec Iss C):C35-C38.
- Koga T, Oho T, et al. Immunization against dental caries. *Vaccine*, 2002;20(16):2027-44.
- Koulourides T. Dinámica de la mineralización biológica aplicada a la caries dental. En: Menaker L, Morhart RE, Navin JM. Bases biológicas de la caries dental. Barcelona: Salvat 1986; pp.447-73.
- Kuramitsu HK. Molecular genetic analysis of the virulence of oral bacterial pathogens: An historical perspective. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2003;14(5):331-44.
- Krüger C, Pearson SK, et al. The effects of egg-derived antibodies to glucosyltransferases on dental caries in rats. *Caries Res*, 2004;38(1):9-14.
- Lindquist B, Emilson I. Colonization of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* genotypes and caries development in children to mothers harboring both species. *Caries Res*, 2004;38:95-103.
- Love RM, Jenkinson HF. Invasion of dental tubules by oral bacteria. *Crit Rev Raldiol Med*, 2002;13:171-83.
- Ma J, Hikmat B, et al. Characterization of a recombinant plant monoclonal secretory antibody and preventive immunotherapy in humans. *Nature Medicine*, 1998;4:601-6.
- Malkoski M, Dashper SG, et al. *Kappacin*, a novel antibacterial peptide from bovine milk. *Antimicrob agents chemother*, 2001;45:2309-15.
- Marcantoni M. Caries dental. Antimicrobianos y vacunas para su control. En: Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1999; pp. 220-47.
- Marsh PD. Microbiology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res*, 1994;8(2):263-71.

- Marsh PD. Are dental diseases a result of ecological catastrophes? *Microbiology*, 2003;149:279-94.
- Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res*, 2004;38(3):204-211.
- Marsh PD. Do dental diseases resemble ecological catastrophes? *Microbiol Aust*, 2005;26:102-105.
- Mattos-Graner RO, Li Y, Caufield P, et al. Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. *J Clin Microbiol*, 2001;39:2313-16.
- Mattos-Graner RO, Smith DJ. The vaccination approach to control infections leading to dental caries. *Braz J Oral Sci*, 2004;3(11):595-608.
- Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 2001;55:165-99.
- Munson MA, Banerjee A, et al. Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. *J. Clin. Microbiol*, 2004;42(7):3023-29.
- Nishimura E, Eto A, et al. Oral streptococci exhibit diverse susceptibility to human beta-defensin-2: antimicrobial effects of hBD-2 on oral streptococci. *Curr Microbiol*, 2004;48(2):85-7.
- Perez A. La biopelícula: una nueva visión de la placa dental. *Rev Estomatol Herediana*, 2005;15(1):82-85.
- Powell L. Caries prediction: a review of literatura. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1998;26:361-71.
- Reading NC, Sperandio V. Quorum sensing: the many languages of bacteria FEMS. *Microbiol Lett*, 2006;254(1):1-11.
- Reinholdt J, Kilian M. Interference of IgA protease with the effect of secretory IgA on adherence of oral *Streptococci* to saliva-coated hydroxyapatite. *J Dent Res*, 1987;66(2):492-7.
- Reynolds EC. Anticariogenic casein phosphopeptides. *Prot Peptide Lett*, 1999;6:295-303.
- Scheie AA, Petersen FC. The biofilm concept. Consequences for future prophylaxis of oral diseases. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2004;15(1):4-12.
- Russell MW, Childers NK, et al. The caries vaccine? The state of the science of immunization against dental caries. *Caries Res*, 2004;38(3):230-35.
- Senadheera MD, Levesque CM, Cvitkovitch DG. Signal peptide pheromones in oral streptococcal biofilms. *Microbiol Aust*, 2005;26:124-126.
- Serrano-Granger J, Herrera D. La placa dental como biofilm ¿Cómo eliminarla? *RCOE*, 2005;10(4):431-39.
- Smith DJ. Dental caries vaccines: prospects and concerns. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2002;13:335-49.
- Smith RN, Andersen RN, Kolembrandt PE. Inhibition of intergenic coaggregation among oral bacteria by cetylpyridinium chloride, chlorhexidine digluconate and octenidine dihydrochloride. *J Periodont Res*, 1991;26:422-8.
- Socransky SS. Criteria for the infections agents in dental caries and periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 1979;7:16-22.
- Solveig F, Ingegerd Z. Root surface caries and associated factors. *Scand J Dent Res*, 1990;98:391-400.
- Stephan RM. Changes in the hydrogen ion concentration on tooth surfaces and in carious lesions. *J Am Dent Assoc*, 1940;27:718.
- Tanner AC, Milgrom PM, et al. Similarity of the oral microbiota of pre-school children with that of their caregivers in a population-based study. *Oral Microbiol Immunol*, 2002;17:379-87.
- Tanzer JM, Livingston J, et al. The microbiology of primary dental caries in humans *J Dent Educ*, 2001;65(10):1028-37.
- Tsumori H, Kuramitsu H. The role of the *Streptococcus mutans* glucosyltransferases in the sucrose-dependent attachment to smooth surfaces: essential role of the Gtf C enzyme. *Oral Microbiol Immunol*, 1997;12:274-80.
- Twetman S. Antimicrobials in future caries control? A review with special reference to chlorhexidine treatment. *Caries Res*, 2004(3):223-29.
- Wade GW, Slyne AM. Controlling plaque by disrupting the process of plaque formation. *Periodontology*, 2000;1997;15:25-31.
- Widerstrom L, Hamberg K, Bratthall D. Intrafamilial similarity in immunoblot profiles of salivary immunoglobulin. A antibody activity to oral *Streptococci*. *Oral Microbiol Immunol*, 1995;10:26-34.

MICROBIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES GINGIVOPERIODONTALES, DE LA PERIIMPLANTITIS, DE LOS CONDUCTOS RADICULARES Y DE LOS PROCESOS PERIRRADICULARES

1º PARTE

MICROBIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES GINGIVOPERIODONTALES

Susana Piovano

Contenidos

Estructuras del periodonto. Enfermedades gingivoperiodontales. Naturaleza infecciosa de las enfermedades periodontales. Criterios para la determinación de un microorganismo patógeno. Transmisión de microorganismos. Cambios taxonómicos recientes. Clasificación de las enfermedades gingivoperiodontales. Biopelículas en la naturaleza. Biopelículas dentales. Biopelícula supragingival y subgingival. Microbiota asociada con un periodonto sano. Microbiota asociada con gingivitis. Microbiota asociada con periodontitis crónica. Microbiota asociada con periodontitis agresiva. Características de algunos microorganismos asociados con enfermedad periodontal. Herpes virus. Respuesta del hospedador. Respuesta inflamatorio e inmune. Predisposición genética. Factores ambientales o adquiridos. Cálculo dental. Diagnóstico microbiológico. Estudios microscópicos. Cultivo bacteriano. Métodos de diagnóstico inmunológicos. Métodos de detección enzimática. Técnicas de biología molecular.

Objetivos

- Citar los mecanismos de formación de la biopelícula supragingival y subgingival.
- Mencionar los microorganismos asociados con las diferentes formas clínicas de enfermedad periodontal.
- Describir los complejos microbianos en salud y enfermedad.
- Describir los determinantes bioquímicos de la virulencia de los microorganismos potencialmente periodontopáticos.
- Enumerar los métodos de identificación de la microbiota subgingival.
- Establecer los pasos para realizar la toma de una muestra y estudios microbiológicos a partir de muestras de la biopelícula subgingival en pacientes con periodontitis.

INTRODUCCIÓN

La caries dental y las enfermedades gingivoperiodontales aún son un problema de salud pública a nivel mundial especialmente en los países en vías de desarrollo.

En el caso particular de las enfermedades gingivoperiodontales, el conocimiento que se tiene sobre ellas ha ido evolucionando sobre la base de los hallazgos de los estudios epidemiológicos rea-

lizados en distintas poblaciones. En la actualidad se postula que sólo un porcentaje de la población adulta tiene periodontitis severa, que no todas las gingivitis progresan a periodontitis, pero que todas las periodontitis se inician con una gingivitis y que la mayor destrucción periodontal observada en las personas de mayor edad es reflejo de la acumulación del daño ocurrido a través de la vida más que producto de alguna condición relacionada con la edad.

Se ha experimentado un significativo avance en las últimas dos décadas, en relación con la etiología y la patogenia de las enfermedades gingivoperiodontales. La naturaleza infecciosa de estas patologías y el reconocimiento e identificación de las características específicas de los microorganismos y de los biofilms han permitido determinar un mejor entendimiento frente a la probabilidad de desarrollar estas enfermedades.

Los microorganismos que están dentro del biofilm son mucho más resistentes a los antibióticos y al sistema inmunitario del hospedador.

Investigaciones recientes, fundamentadas en estudios epidemiológicos, sostienen que la periodontitis puede ser un factor de riesgo para enfermedades sistémicas (véase cap. 22).

ESTRUCTURAS DEL PERIODONTO

El periodonto está formado por encía, ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar (fig. 20-1). La encía forma parte del periodonto de protección. El ligamento periodontal, el cemento radicular y el hueso alveolar integran el periodonto de inserción.

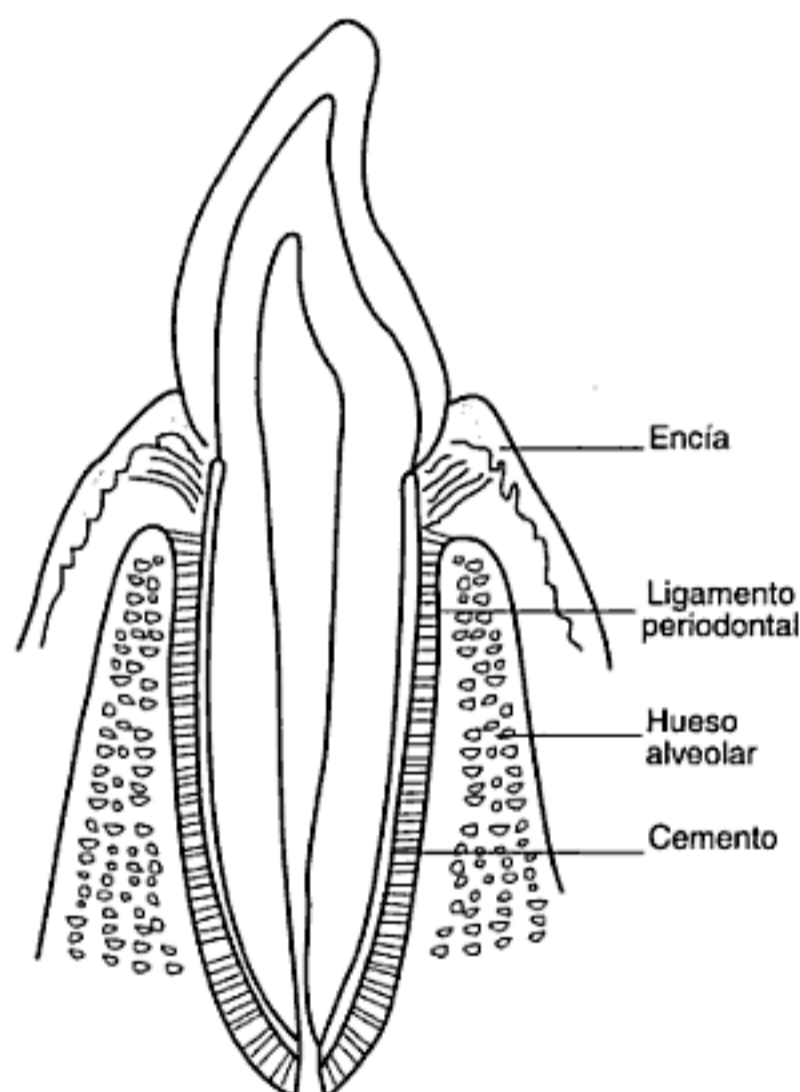


Fig. 20-1. Estructuras del periodonto.

Encía: es la parte de la mucosa bucal que recubre las apófisis óseas alveolares y rodea la porción cervical de los dientes.

Ligamento periodontal: es la estructura del tejido conectivo situada entre el cemento radicular y la lámina dura alveolar.

Cemento radicular: es un tejido conectivo calcificado que recubre las superficies radiculares.

Hueso alveolar: es la cavidad ósea en la que se aloja y sostiene el diente.

ENFERMEDADES GINGIVOPERIODONTALES

El término enfermedades gingivoperiodontales alude a procesos patológicos que alteran las estructuras del periodonto y estos procesos pueden reunirse en dos grandes grupos:

1. La gingivitis incluye los procesos que afectan la encía; es una inflamación de los tejidos blandos que rodean al diente sin extenderse al cemento, el ligamento periodontal y el hueso alveolar.
2. Las periodontitis son procesos que comprometen todas las estructuras del periodonto y son una familia de patologías que difieren en su etiología, historia natural, progresión y respuesta al tratamiento.

NATURALEZA INFECCIOSA DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES

Las enfermedades periodontales, gingivitis y periodontitis, están asociadas a la biopelícula dental. Los siguientes hechos ponen de relieve el papel de las bacterias en ellas:

1. En estudios longitudinales se ha demostrado la correlación existente entre la biopelícula dental y la gingivitis. La eliminación de la biopelícula dental conduce a la resolución del cuadro inflamatorio.
2. En los pacientes con periodontitis la disminución de microorganismos específicos por medio de tratamientos antiinfecciosos produce una sensible mejoría clínica.
3. En estudios realizados *in vitro* e *in vivo* se ha evidenciado el poder patogénico de determinados microorganismos mediante: a) pruebas de laboratorio y b) la inoculación en animales de experimentación.

Hasta hace tres décadas, las variaciones en la composición de la biopelícula dental no se consideraban importantes desde el punto de vista pato-

génico, sino que se suponía que los cambios que conducían a una enfermedad periodontal se debían a un aumento de la cantidad de microorganismos de la microbiota autóctona. Se pensaba que más que un cambio en la composición bacteriana había un aumento en el grosor de la biopelícula, que inducía el proceso patológico.

El estudio de Løe demostró cómo la acumulación de placa precedía e iniciaba la aparición de gingivitis.

Sin embargo, esta hipótesis inespecífica sobre la etiología de la enfermedad periodontal no podía explicar la naturaleza a menudo localizada de la destrucción periodontal y tampoco explicaba por qué los individuos con grandes acúmulos de biopelícula dental no desarrollaban una enfermedad periodontal destructiva, mientras que otros con escasa biopelícula dental mostraban una pérdida progresiva de sus estructuras periodontales.

Desde la década de los años ochenta se ha desarrollado el concepto de especificidad microbiana en las distintas formas de enfermedad periodontal y su evolución clínica según los microorganismos presentes en la biopelícula dental.

La relación de determinados grupos de microorganismos con las periodontitis introdujo la teoría de "infección específica" y numerosos estudios la avalaron. La composición microbiana de las muestras tomadas de sitios enfermos demostró que difería de la de los sanos, en los pacientes con periodontitis agresiva (anteriormente denominada periodontitis juvenil localizada), periodontitis crónica (anteriormente denominada periodontitis del adulto), y entre sitios enfermos de pacientes con periodontitis agresiva y periodontitis crónica.

Las investigaciones se centraron en identificar los patógenos responsables de las periodontitis. Se encontró que algunas bacterias subgingivales, como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*, estaban raramente presentes en un periodonto sano. La hipótesis que se desarrolló fue que estas bacterias podían ser organismos exógenos en zonas subgingivales y representar infecciones verdaderas (exógenas). Existían otras bacterias subgingivales que sí se encontraban en pacientes sanos, por lo que se denominó infecciones periodontales endógenas aquellas causadas por microorganismos autóctonos.

Recientemente, se conciliaron los elementos principales de estas dos hipótesis anteriores. La hipótesis de la "placa ecológica" (biopelícula o biofilm), propuesta por Marsh (1994, 2003), sostiene que los organismos asociados con la enfermedad pueden estar presentes también en los sitios sanos, pero en niveles bajos, clínicamente no relevantes. La enfermedad sería el resultado de los

cambios ocurridos en el balance de la microbiota que reside en la biopelícula, como consecuencia de la modificación de las condiciones medioambientales locales.

Sobre el papel que juegan los microorganismos, pueden destacarse tres grandes edades o etapas epistemológicas: la microscópica, la patogénica y la ecológica.

La nueva visión sobre la acción de los microorganismos en las enfermedades infecciosas haría pensar que es un problema ecológico del microorganismo y su ambiente. Las bacterias normalmente se adhieren a las superficies formando biopelículas.

La formación de biopelículas o biofilms se considera una estrategia de supervivencia; los microorganismos están en un ambiente (hidratado) con disponibilidad de agua, de nutrientes, de intercambio genético, de impermeabilidad a los antibióticos o de otras sustancias tóxicas, etc.

Criterios para la determinación de un microorganismo patógeno

Los criterios clásicos utilizados para establecer la etiología microbiana de las enfermedades infecciosas humanas fueron los postulados de Koch (véase cap. 17).

Estos criterios no son aplicables para definir los patógenos periodontales por lo que han sido modificados para justificar la etiología de la enfermedad periodontal. Estas modificaciones se deben fundamentalmente a la presencia de una microbiota autóctona y a su complejidad.

Los **postulados de Socransky** determinan las características que debe reunir un microorganismo para ser considerado un patógeno potencial asociado con las diferentes formas clínicas de enfermedad periodontal.

1. El microorganismo debe estar presente en una proporción elevada en sitios activos de la enfermedad.
2. La eliminación del microorganismo se asocia con la remisión de la enfermedad.
3. Los microorganismos poseen factores de virulencia, para iniciar y agravar la enfermedad.
4. Si una bacteria es capaz de producir infección, el organismo debe producir una respuesta inmune celular o humoral frente a dicho patógeno.
5. La implantación experimental del microorganismo dentro del surco gingival de un animal de experimentación debe inducir la enfermedad, inflamación, daño en el tejido conectivo y pérdida ósea.
6. Análisis de riesgo: Los estudios prospectivos deben demostrar el riesgo que supone la presencia de esa especie para la progresión de la enfermedad.

Los estudios epidemiológicos muestran que debe considerarse si la condición es necesaria o suficiente para identificar una relación causal. Los microorganismos que constituyen la biopelícula dental serían necesarios y suficientes para originar gingivitis, pero en el caso de periodontitis, como en la mayoría de las enfermedades infecciosas, la presencia del agente microbiano (condición necesaria) no sería suficiente para producir la pérdida del nivel de inserción clínica, y el efecto puede estar condicionado y relacionado con otros factores que incluyen la genética, deficiencias nutricionales, exposiciones tóxicas (hábito de fumar tabaco), estrés, y la compleja red de relaciones sociales.

Las enfermedades periodontales son consideradas multifactoriales.

Transmisión de microorganismos

Se ha demostrado transmisión de microorganismos de un lugar a otro de la cavidad bucal y de una persona a otra. La epidemiología molecular ha permitido evidenciar la transmisión vertical de padres a hijos de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*.

Los estudios destacan una cierta correlación en el estado periodontal de los individuos de una familia. La aparición de formas agresivas de periodontitis en individuos de corta edad asociada a *A. actinomycetemcomitans* se produce por el contacto con un padre previamente infectado.

Por métodos moleculares, también se ha demostrado la transmisión horizontal de *Porphyromonas gingivalis* entre parejas.

En la actualidad se desconoce el alcance clínico de la transmisión de patógenos, ya que, a pesar de poseer el agente infectante, las parejas de los pacientes con periodontitis en ocasiones no desarrollan la enfermedad.

Aunque existe evidencia de transmisión familiar de patógenos periodontales, no es posible demostrar que la enfermedad periodontal sea contagiosa; las bacterias parecen ser transmisibles, según el número de microorganismos que se transmiten y la frecuencia de contacto; su colonización dependerá, además, de factores del hospedador y condiciones del medio ambiente social y estilo de vida.

CAMBIOS TAXONÓMICOS RECIENTES

El desarrollo de la genética ha determinado importantes cambios en la clasificación y taxonomía bacteriana que, en caso de los anaerobios, han sido muy significativos (véase cap. 18).

CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES GINGIVOPERIODONTALES

Luego de numerosos cambios, la clasificación aplicada en la actualidad es la propuesta y aceptada en 1999 (cuadro 20-1). Esta clasificación se diferencia de las anteriores en que se elimina cualquier dato concerniente a la edad y a la progresión de la enfermedad. Todos los casos que no muestran una destrucción agresiva de los tejidos periodontales, independientemente de la edad, se agrupan como "periodontitis crónica" en lugar de periodontitis del adulto, y divididas en "localizada" y "generalizada" en función de la extensión de la afección. Por otro lado, las formas de enfermedad periodontal claramente destructivas se denominan "periodontitis agresivas", que a su vez se clasifican en "localizada" y "generalizada", y se incluyen la mayoría de

Cuadro 20-1. Clasificación de las enfermedades gingivoperiodontales

-
- I. Enfermedades gingivales**
 - A. Enfermedades gingivales inducidas por el biofilm
 - B. Enfermedades gingivales no inducidas por el biofilm
 - II. Periodontitis crónica**
 - Leve (pérdida de inserción clínica: 1-2 mm)
 - Moderada (3-4 mm de pérdida de inserción clínica)
 - Severa (≥ 5 mm de pérdida de inserción clínica)
 - A. Localizada (menos de 30% de los sitios afectados)
 - B. Generalizada (más de 30% de los sitios afectados)
 - III. Periodontitis agresiva**
 - Leve (pérdida de inserción clínica: 1-2 mm)
 - Moderada (3-4 mm de pérdida de inserción clínica)
 - Severa (≥ 5 mm de pérdida de inserción clínica)
 - A. Localizada (menos de 30% de los sitios afectados)
 - B. Generalizada (más de 30% de los sitios afectados)
 - IV. Periodontitis como manifestación de una enfermedad sistémica**
 - A. Asociada con enfermedades hematológicas
 - B. Asociada con desórdenes genéticos
 - C. Otras no especificadas
 - V. Enfermedades periodontales necrotizantes**
 - A. Gingivitis ulceronecrotizante
 - B. Periodontitis ulceronecrotizante
 - VI. Abscesos del periodonto**
 - A. Absceso gingival
 - B. Absceso periodontal
 - C. Absceso coronal
 - VII. Periodontitis asociada con lesiones endodónticas**
 - VIII. Condiciones y deformidades adquiridas o del desarrollo**
 - A. Factores relacionados al diente que modifican o predisponen a gingivitis o periodontitis asociada a biofilm
 - B. Deformidades y condiciones mucogingivales alrededor del diente
 - C. Deformidades y condiciones mucogingivales en rebordes alveolares
 - D. Trauma oclusal
-

los casos que anteriormente se reconocían como periodontitis prepuberal y juvenil, excepto aquellas asociadas a enfermedades sistémicas. Según la extensión de los sitios comprometidos se agrupó en: a) localizada si afecta < 30% de los sitios y b) generalizada si es > de 30%. La severidad está basada en la pérdida de la inserción clínica (PIC) y se agrupa: a) leve (1-2 mm PIC), b) moderada (3-4 mm de PIC) y c) severa (= 5 mm de PIC).

Esta nueva clasificación además:

- Incluye una extensa clasificación de las enfermedades gingivales.
- Considera los aspectos sistémicos del individuo afectado periodontalmente.
- Da importancia a las manifestaciones o lesiones periodontales de enfermedades sistémicas.
- Excluye la denominación de periodontitis refractaria, que había generado controversias.
- Las enfermedades periodontales necrotizantes comprenden la gingivitis y la periodontitis ulceronecrotizantes.
- Incorpora el absceso periodontal, que se excluyó en 1989.
- Incluye los aspectos que tienen relación con lesiones periodontales endodónticas.

BIOPELÍCULAS EN LA NATURALEZA

Las bacterias existen en la naturaleza bajo dos formas o estados: a) bacterias planctónicas, de libre flotación, y b) bacterias sésiles que forman parte de las biopelículas.

En cualquier parte de la naturaleza “una biopelícula es una comunidad microbiana sésil, caracterizada por células irreversiblemente unidas a un sustrato o interfase y entre sí, embebidas en una matriz extracelular de sustancias polimerizadas por ellas producidas y que exhiben un fenotipo alterado con respecto al grado de multiplicación celular y transcripción de genes”. Las colonias de microorganismos que crecen en un medio sólido como el agar forman matriz extracelular, pero no son biopelículas, porque conservan el fenotipo de las planctónicas.

Estas estructuras que se organizan en forma de colonias adheridas a diferentes superficies, ya sean blandas, animadas e inanimadas, y están formadas por un 15-25% de células y un 75-85% de agua y matriz extracelular, generalmente polisacáridos (segregados por las bacterias), aunque puede contener también proteínas, ácidos nucleicos, restos de plaquetas, fibrina y calcio. En esa comunidad heterogénea, de estructura compleja, los microorganismos conviven, cooperan, se comunican por sistemas de señales (*quorum sensing*) que dirigen el fenotipo y regulan la expresión de genes que nunca se expresan en las formas planctónicas. Esta acumulación de señales químicas depende de la densidad bacteriana. En esas estructuras hay distintos microambientes (fig. 20-2).

La hidrodinámica juega un papel importante en el desarrollo de la biopelícula, pues estas organizaciones se desarrollan en una interfase líquido-sólido, donde la velocidad del flujo que lo atraviesa influye en el desprendimiento físico de los microorganismos. Otras características se mencionaron en capítulos anteriores.

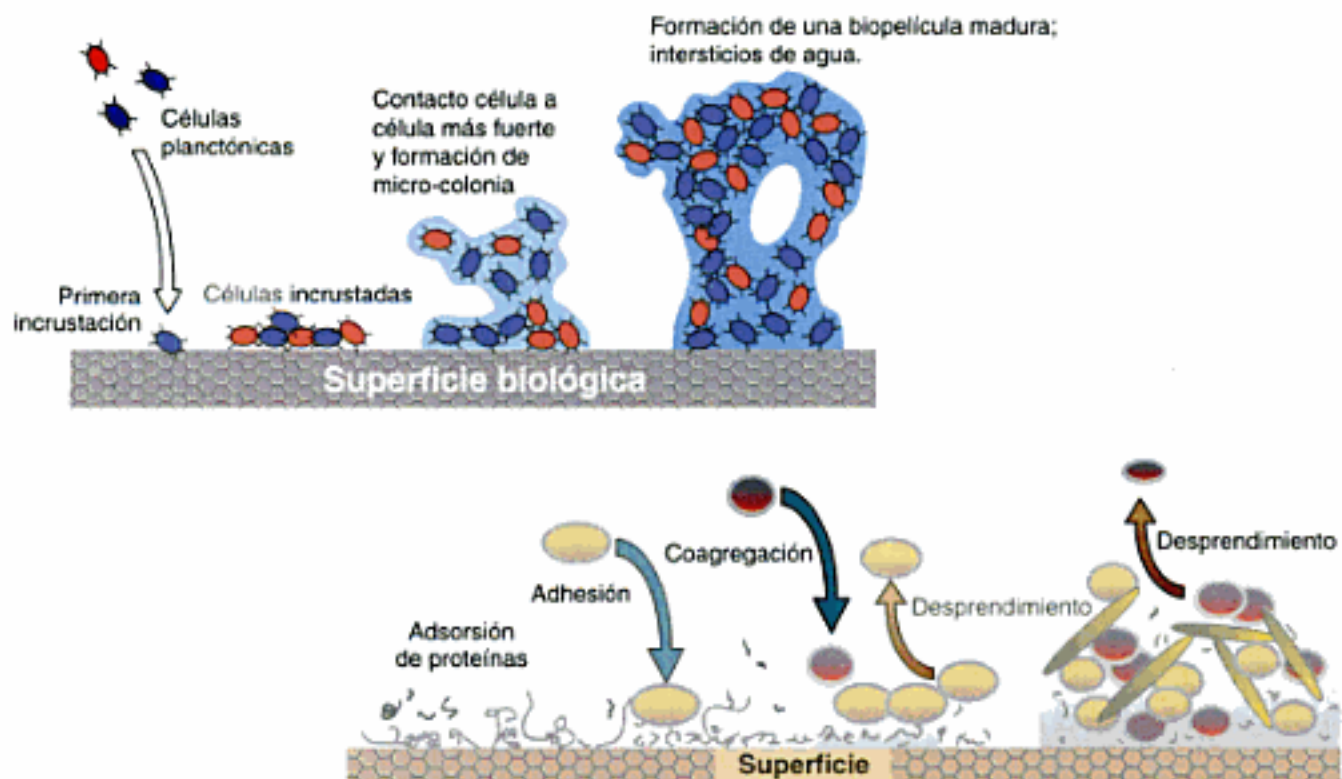


Fig. 20-2. Etapas en la formación del biofilm. Adaptado de Svensalery Bergenholtz, 2004.

La formación y la estructura de una biopelícula depende de las características del sustrato al cual se une y a otros aspectos del medio ambiente. Así, las biopelículas en una superficie mucosa son fisiológicamente diferentes de aquellos formados en superficies inertes. Se ha acuñado el término "biopelícula de mucosa" para describir aquellas que son características de las mucosas. Éstas, aunque estrechamente relacionadas con las encontradas en superficies inertes, no son idénticas en cuanto a su expresión génica, ni en la naturaleza de sus microambientes. Las biopelículas de mucosas son moduladas por la respuesta inflamatoria del huésped y, además, por proteínas y células del huésped que contribuyen a su composición.

La característica de las biopelículas es que resisten a los antimicrobianos locales y sistémicos, al estrés ambiental y a las defensas del hospedador.

Biopelículas dentales

Las bacterias que se encuentran en la saliva pueden ser consideradas bacterias planctónicas (bacterias que flotan en una fase líquida). Las bacterias que se encuentran en una superficie dura (diente, reconstrucciones, prótesis e implantes) forman una película gelatinosa adherente: la biopelícula dental.

Las biopelículas pueden desarrollarse por medio de dos tipos de procesos:

- A partir de una célula planctónica.
- A partir de otra biopelícula; estas células desprendidas mantendrían todas las propiedades de la biopelícula de donde proceden.

En el capítulo 18 se han relatado los mecanismos de adherencia, los colonizadores primarios, que luego establecen interacciones moleculares específicas que dan lugar a una adherencia irreversible. Las bacterias expresan ciertos genes y comienzan a secretar un exopolisacárido, producen estructuras similares a setas atravesadas por canales. El exopolisacárido depende de la bacteria de que se trate, pero también está influenciado por el medio.

Posteriormente se modifican las condiciones medioambientales locales; el lugar se torna un medio favorable para la colonización de especies anaerobias. Estos últimos colonizadores se unen a especies bacterianas ya adheridas a través de la coagregación. De esta manera, se formarán biopelículas estructuralmente complejas compuestas por diversas especies de microorganismos.

La biopelícula dental, con el tiempo, se convierte en una estructura organizada, con organis-

mos que ocupan posiciones particulares definidas, debido a las propiedades biológicas y físicas del sitio en el que se encuentran; es lo que algunos investigadores han denominado "mosaico de microorganismos".

Esta combinación de especies dentro de la biopelícula no sería aleatoria, sino que existirían asociaciones específicas entre bacterias.

Las bacterias tienen capacidad para comunicarse entre ellas; la comunicación entre las poblaciones se puede producir por señales moleculares o intercambiando material genético. Entre estos procesos, se destaca el *quorum sensing* que se refiere a la regulación de la expresión de genes específicos por la acumulación de señales en el ambiente que median en la comunicación intercelular. Además, el intercambio genético puede darse por distintos mecanismos, como la conjugación, la transformación, la transferencia de plásmidos y la transferencia de transposones (véase cap. 6). Estas características dan a los biofilms sus propiedades peculiares.

Las bacterias que forman parte del biofilm o biopelícula (sésiles) disfrutan de un gran número de ventajas en comparación con las bacterias aisladas (planctónicas).

Las características a resaltar de los **biofilms o biopelículas dentales** son las siguientes:

- Las comunidades de bacterias **están asociadas entre sí de modo que unas colaboran en el desarrollo de otras comunidades**. Las diferentes comunidades exhiben una **cooperación metabólica**, por ejemplo, con el intercambio de nutrientes.
- Las comunidades que componen las biopelículas **poseen microambientes radicalmente diferentes**: variaciones de pH, concentraciones de oxígeno y potenciales eléctricos; esto permite nichos adecuados a todas las especies.

Cuadro 20-2. Características de las biopelículas

- Son comunidades ecológicas que evolucionaron para permitir la supervivencia de la comunidad como un todo.
- La comunidad presenta cooperación metabólica.
- Hay un sistema circulatorio primitivo.
- Posee numerosos microambientes con diferentes radicales de pH, concentraciones de oxígeno y potenciales eléctricos.
- Las biopelículas resisten la defensa usual del hospedador.
- Las biopelículas resisten antibióticos sistémicos o locales y agentes antimicrobianos.
- *Quorum sensing*.

Page y col., 1997. Darveau y col., 1997.

- Dentro del biofilm existe un sistema circulatorio primitivo formado por canales de agua, que permite intercambio metabólico y de señales.
- Los biofilms proporcionan seguridad a las comunidades que la componen, ya que son capaces de resistir las defensas del hospedador y los antibióticos sistémicos, locales y antisépticos.

Los procesos de intercomunicación entre las poblaciones bacterianas que componen el biofilm son quizás la característica más importante de su organización. Algunas de las funciones de los biofilms van a depender de la habilidad de las bacterias para comunicarse entre sí (cuadro 20-2).

Biopelícula supragingival y subgingival

Según su ubicación y en relación con el margen gingival, la biopelícula se diferencia en supragingival y subgingival. Al ser diferentes las superficies a colonizar y el fluido circundante, la microbiota que las coloniza es distinta.

La biopelícula supragingival presenta la superficie dentaria, mientras que la zona subgingival presenta dos superficies, la superficie dentaria y el epitelio. Por lo tanto, se establece una biopelícula adherida al diente y una adherida al epitelio; en medio de las dos existe una microbiota poco adherente o libre. El líquido que circunda el área supragingival es la saliva y en la subgingival, el exudado gingival.

La biopelícula tiene una composición microbiana diversa que, en la salud, permanece relativamente estable con el tiempo (homeostasis microbiana).

Biopelícula supragingival

La formación de la biopelícula supragingival se inicia sobre la superficie dental cercana al margen gingival y en dos etapas:

La primera involucra la adherencia bacteriana a la superficie dentaria y la segunda implica la multiplicación, la coagregación y la maduración de microorganismos, lo que determina la sucesión microbiana. En esta biopelícula se han observado dos tipos de sucesiones: una denominada autogénica, que consiste en un cambio sincrónico del ambiente y la comunidad, y que se debe a la actividad de los propios organismos, y otra denominada alogénica, que es la sustitución de las especies como resultado de cambios ambientales relativamente grandes que escapan al control de los organismos autóctonos (figs. 20-3 y 20-5).

La interacción entre los factores microbianos y no microbianos de un ecosistema conduce final-

mente a una estabilización; ésta es la comunidad clímax. Se mantiene en el tiempo y refleja una situación dinámica en que las células mueren y se sustituyen. El clímax puede modificarse por las fuerzas exógenas, aunque tiende a ser restaurado a su estado original. En otros momentos, pueden alterarse los ambientes irreversiblemente; esto lleva a un estado de equilibrio y un diferente clímax de la comunidad.

El desarrollo de gingivitis es un ejemplo de sucesión microbiana, así como la interacción de las especies y el hábitat.

Los trabajos de Løe y de Theilade, y sus respectivos colaboradores, demostraron que la biopelícula dental causó gingivitis. La suspensión de higiene por veintiocho días en voluntarios con salud periodontal producía la acumulación rápida de la biopelícula dental sobre los dientes. La gingivitis se desarrolló en todos los individuos en el término de 10-21 días. El reestablecimiento de procedimientos de higiene bucal removió la biopelícula dental y revirtió la gingivitis. Observaciones microscópicas realizadas durante el curso de veintiocho días revelaron una colonización inicial por cocos y bacilos grampositivos, a los que luego se agregaron filamentos, posteriormente cocos y bacilos gramnegativos y, finalmente, espirilos y espiroquetas. La aparición de gingivitis clínica se relacionó a la aparición de las formas gramnegativas.

La biopelícula supragingival se evidencia con tinciones especiales con soluciones o pastillas reveladoras; el elemento teñido que persiste en la vecindad del margen gingival, luego de la tinción seguido de un enjuague con agua, corresponde a la biopelícula supragingival.

Complejos microbianos

Recientemente fue sugerido que los patógenos periodontales no actúan aisladamente, y la interacción entre especies patogénicas y benéficas afectan la progresión de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.

Socransky y colaboradores describieron cinco complejos microbianos. Las especies dentro de los complejos estaban estrechamente asociadas. Los "complejos" rojo y naranja mostraron una asociación significativa, mientras que "los complejos" púrpura, amarillo y verde parecían estar más fuertemente asociados entre sí, que a los complejos naranja o rojo (fig. 20-5).

La colonización inicial parece involucrar a los miembros de los complejos amarillo y púrpura junto con las especies de *Actinomyces*. Esto lleva a la sucesión autogénica, luego colonizan los miembros del complejo verde y posteriormente los del

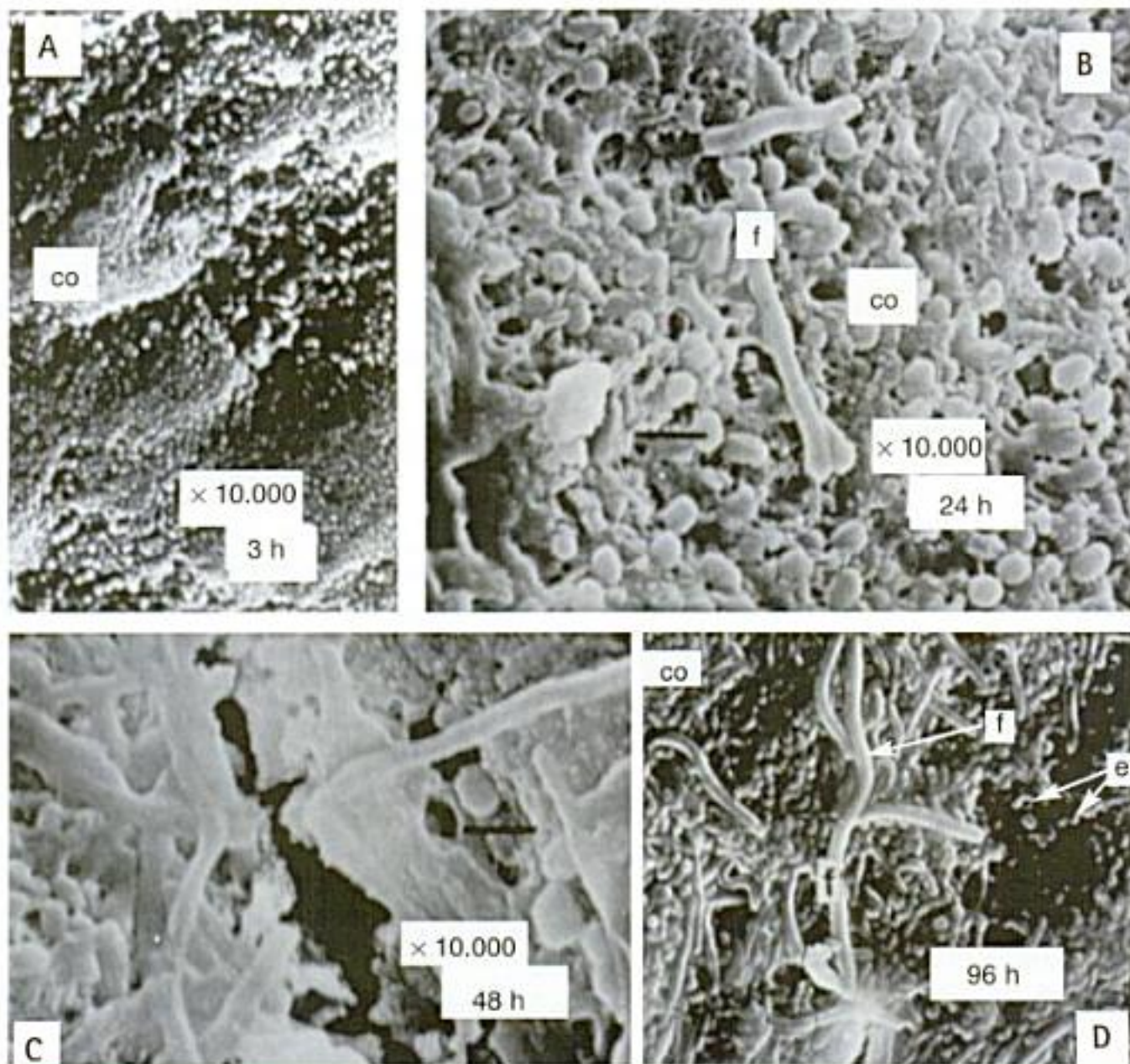


Fig. 20-3. Morfogénesis de la biopelícula de placa dental supragingival. **A.** Tres horas. Película adquirida. Escasas células cocoides. (co) **B.** Veinticuatro horas. Aumento de células cocoides, inclusión de organismos filamentosos (f). **C.** Cuarenta y ocho horas. Aumento de organismos filamentosos. **D.** Noventa y seis horas. Prevalencia de organismos filamentosos (f). Formas espiraladas (e).

naranja pasan a ser dominantes y actuarían como **puentes** entre los colonizadores tempranos y los colonizadores más tardíos constituidos por el complejo rojo. Los colonizadores del complejo naranja y rojo son prevalentes en etapas avanzadas.

En la figura 20-5 se citan los microorganismos en cada complejo.

Las diferencias principales entre salud y enfermedad se basan en el predominio de los complejos rojo y naranja, que son prevalentes en la biopelícula subgingival asociados con gingivitis y periodontitis.

Biopelícula subgingival

Estructura y organización de la biopelícula subgingival

La biopelícula subgingival está ubicada a nivel del espacio virtual del surco gingival escasamente

colonizado en estado de salud periodontal. Sin embargo, la cantidad y la diversidad de microorganismos aumentan en enfermedad.

Debido a los aspectos morfológicos del surco gingival y la bolsa periodontal, los microorganismos se encuentran menos sujetos a las actividades de limpieza homeostática. Con la acumulación y la maduración de la biopelícula supragingival, se producen cambios inflamatorios que modifican las relaciones anatómicas entre el margen gingival y la superficie dentaria, y el resultado es un nuevo ambiente ecológico, protegido por el medio bucal supragingival y con acceso al fluido gingival. El establecimiento y las proporciones relativas de microorganismos subgingivales en estos sitios profundos están influenciados por células epiteliales e inflamatorias y por los productos finales del metabolismo bacteriano.

Esta área retentiva determina un medio en el cual pueden colonizar los microorganismos que no

3º colonizadores (gramnegativos)

Prevotella denticola,
P. intermedia, *P. nigrescens*,
Porphyromonas gingivalis,
T. forsythia

2º colonizadores (gramnegativos)

Especies puente -
F. nucleatum
Se unen a otras bacterias

1º colonizadores (gramnegativos)

Streptococcus
adheridos a las proteínas
de la película

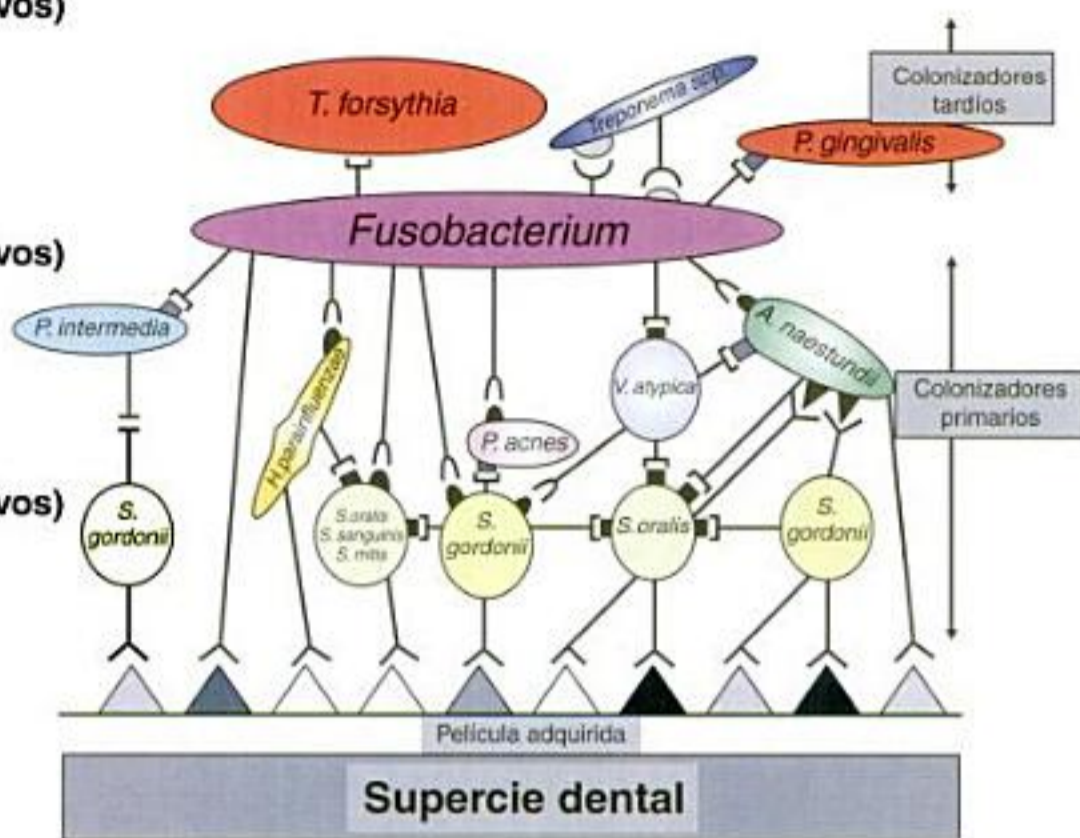
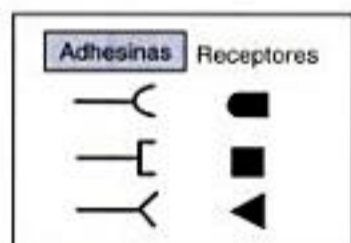


Fig. 20-4. La comunidad microbiana de la biopelícula dental. Adaptado de Kolenbrander et. al 2002, Microbiol Mol Biol Rew 66:486.

se adhieren con facilidad a las superficies duras, pero sí pueden adherirse a otras bacterias y al epitelio de la bolsa. La luz de la bolsa es un acceso directo a los nutrientes (principalmente proteínas) presentes en el líquido gingival y la biopelícula supragingival proporciona un ambiente físico, con

un bajo potencial de óxido-reducción, que permite que lleguen a establecerse las bacterias anaerobias. En estas condiciones locales los factores ambientales del hospedador facilitan una microbiota subgingival específica, cuyo aumento genera un cambio patológico.

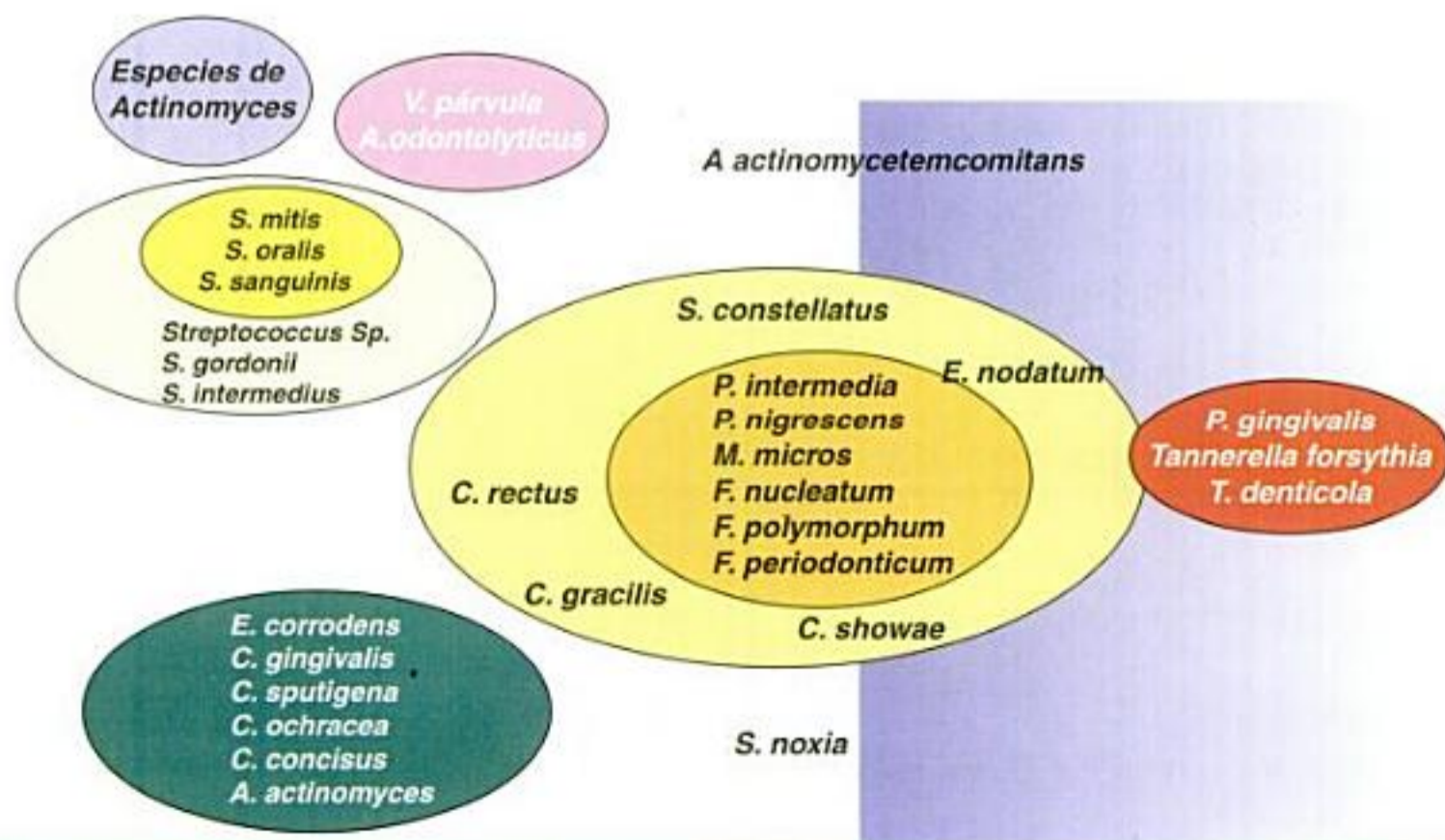


Fig. 20-5. Complejos microbianos. Socransky S, Haffajee AD, y col. J Clin Periodonto 25: 134144,19. Socransky S, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. Periodontology, 2000; 38-185,20.

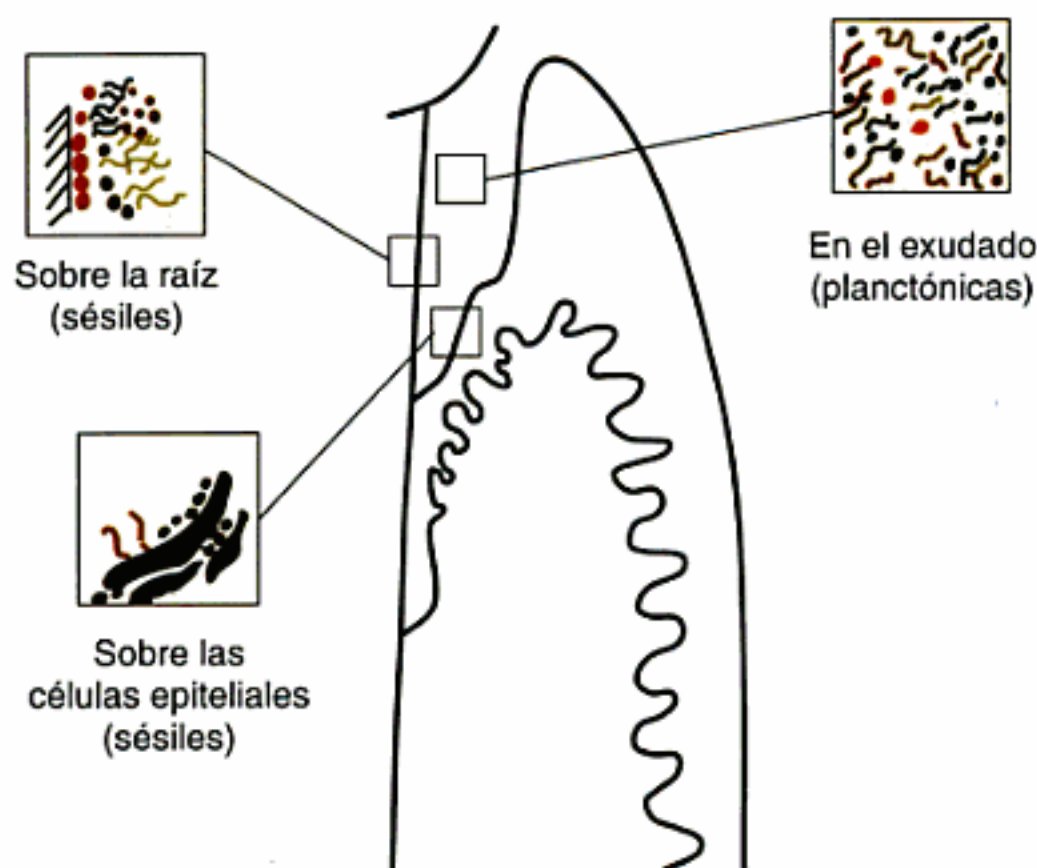


Fig. 20-6. Biopelícula subgingival.

Las observaciones realizadas con el microscopio electrónico en dientes humanos extraídos con tejidos adyacentes han sido importantes para conocer la colonización de los microorganismos en los sitios subgingivales. Estos estudios demostraron que las bacterias y otros microorganismos de la placa subgingival vinculada con el epitelio pueden penetrar en el tejido conectivo gingival y colonizarlo.

En la formación de la biopelícula subgingival también existe una combinación de reacciones de adhesión, coagregación y unión de microorganismos, y pueden distinguirse tres zonas: 1) relacionada con el diente, 2) no adherida o libre flotante y 3) relacionada con el epitelio (fig. 20-6).

Invasión microbiana

1. Se han observado microorganismos en el interior de los tejidos gingivales tanto a nivel del epitelio de la bolsa como del epitelio de unión en los espacios intercelulares, en el tejido conectivo, en el hueso alveolar, en el interior de los vasos sanguíneos, etcétera.
2. Los morfotipos encontrados han incluido cocos, bacilos, fusiformes, filamentos, micoplasmas y treponemas.
3. La invasión microbiana parece ocupar un lugar destacado en la etiopatogenia de la enfermedad periodontal.

Cuadro 20-3. Características de patogenicidad de las especies asociadas frecuentemente con enfermedad periodontal (Adaptado de Loesche W, 1993)

Especie	Penetración	Lipopolisacáridos	Antigenicidad	Otros
<i>Aggregatibacter actinomycetem-comitans</i>	SÍ (++)	SÍ (+)	SÍ (++)	Leucotoxina
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	SÍ (+)	SÍ (+)	SÍ (++)	Enzima tripsina
<i>Treponema denticola</i>	SÍ (++)	SÍ (+)	SÍ (+)	Enzima tipo tripsina o similar

++ y + indican la característica relativa.

La presencia de espiroquetas en el tejido periodontal de pacientes con enfermedades periodontales ulceronecrotizantes está fehacientemente confirmada.

Puede haber microorganismos específicos que invadan el periodonto en casos de periodontitis agresiva.

Distintos patógenos se han visualizado en biopsias de tejidos o cultivos de material patológico; entre estos patógenos se encuentran *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga sputigena*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema vincentii* y probablemente *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*. Al primero y al tercero se les atribuye gran capacidad invasora (cuadro 20-3).

Microbiota asociada con un periodonto sano

Cuando una superficie dentaria sana está expuesta a las bacterias que forman la biopelícula, éstas se unen a la superficie del diente y se extienden descendiendo hacia el interior del surco gingival.

La microbiota está formada principalmente por grampositivos (85%), en especial cocos, y un 75% de anaerobios facultativos.

Los estudios microbiológicos generalmente concuerdan en que los microorganismos del surco gingival sano consisten en relativamente pocas células, predominantemente grampositivas, constituidas por especies de *Streptococcus* y *Actinomyces* (75%).

Los cultivos bacterianos han demostrado un predominio de estreptococos, sobre todo de *S. sanguinis*. A menudo hay especies de *Actinomyces*, que incluyen *Actinomyces viscosus* y *A. naeslundii* (complejos amarillo y azul).

Los bacilos gramnegativos y las espiroquetas están presentes en bajo número o no se detectan dentro de la microbiota de un surco sano.

Microbiota asociada con gingivitis

En la gingivitis hay aumento en el espesor de la biopelícula y una microbiota más compleja. Se ha postulado que la transición entre la salud y la gingivitis es debido a un crecimiento excesivo de especies grampositivas. Sin embargo, otros investigadores han encontrado una proporción aumentada de especies gramnegativas. De hecho, las condiciones inflamatorias proporcionan un ambiente relativamente anaerobio que favorece la colonización por bacilos móviles y espiroquetas. Los cultivos del biofilm, en gingivitis, mostraron desarrollo

de especies de *Actinomyces*, estreptococos, *Veillonella*, *Fusobacterium* y *Treponemas*, *Prevotella intermedia* y especies de *Campylobacter* (complejos amarillo, azul, verde, púrpura y naranja).

La gingivitis a su vez favorece una proliferación importante de los complejos naranja y rojo (fig. 20-7).

Gingivitis agravada por hormonas esteroideas, gingivitis de la pubertad y gingivitis del embarazo

Durante la pubertad los niños presentan una prevalencia elevada de gingivitis. Algunos autores muestran un aumento en la proporción de anaerobios gramnegativos.

Observaciones similares se han registrado en mujeres gestantes a partir del segundo trimestre del embarazo. Durante el embarazo se produce un aumento de progesterona, que induciría una modificación en la composición bacteriana de la biopelícula dental. La presencia de hormonas sexuales en el embarazo, la pubertad y de las que toman anti-conceptivos orales se relaciona con un aumento de *Prevotella intermedia* y el concomitante aumento de la inflamación gingival; se considera que el estradiol y la progesterona actuarían como nutrientes de estos microorganismos y serían sustitutos de la vitamina K y naftoquinona, nutrientes esenciales para el desarrollo de *Prevotella intermedia*.

En estas ocasiones la enfermedad gingival se ha asociado con un control inadecuado de la biopelícula dental, **agravado** por hormonas esteroideas.

Otros estudios sugieren que la respuesta inflamatoria puede deberse a que las hormonas sexuales alteran el metabolismo tisular y la microvasculatura.



Fig. 20-7. Gingivitis. Inflamación asociada a biopelícula de placa dental. La pastilla reveladora muestra la biopelícula (coloreada) como una línea continua y extendida cercana al margen gingival.



Fig. 20-8. Enfermedades periodontales necrotizantes. Cráteres que se cubren de un exudado fibrinoso que ha sido denominado seudomembrana. La enfermedad puede afectar una o varias piezas dentarias.

Gingivitis ulceronecrosante

La gingivitis ulceronecrosante es una enfermedad inflamatoria y destructiva de la encía asociada con biopelícula dental. La encía se ulcera, se necrosa y deja cráteres que se cubren de un exudado fibrinoso que ha sido denominado seudomembrana. La enfermedad puede afectar una o varias piezas dentarias (fig. 20-8).

El cuadro se caracteriza por la presencia de dolor, hemorragia, ulceración, seudomembrana, comienzo brusco, adenopatías, halitosis y a veces fiebre.

La gingivitis ulceronecrosante es atribuida a la simbiosis fusospiroquetal. Recientemente, por medio de cultivos, se han identificado además especies de *Selenomonas*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* asociadas con *Treponemas*.

Las bacterias prevalentes son *Prevotella intermedia* (8 a 15%) y espiroquetas medianas. Los estudios con microscopía electrónica de transmisión han demostrado la invasión de espiroquetas en los tejidos, resultado de la disminución de las defensas del hospedador, según algunos autores.

Estudios más recientes han asociado al citomegalovirus, al virus de Epstein Barr tipo I y II, al virus herpes simple, al herpes virus 6, al papilomavirus humano y al virus de la inmunodeficiencia humana tipo I con el inicio o progresión de la gingivitis ulceronecrosante.

Los factores que predisponen a la gingivitis ulceronecrosante incluyen pobre higiene bucal y gingivitis preexistente, factores emocionales, hábito de fumar, bajo nivel socioeconómico, desnutrición asociada con disminución de la respuesta inmune, respuesta inflamatoria alterada y enfermedades sistémicas.

Microbiota asociada con periodontitis crónica

Las principales características son: biopelícula supragingival abundante (fig. 20-9).

La microbiota subgingival prevalente es: anaerobios (90%), de los cuales son gram- (60%), espiroquetas (30%) y muy escasos cocos.

Los estudios de los microorganismos subgingivales predominantes en las lesiones de la periodontitis crónica han revelado la gran diversidad microbiana (complejos naranja, rojo y, en menor proporción, los complejos amarillo, púrpura, azul, verde).

No hay aún evidencia directa para concluir qué especies bacterianas comienzan el primer paso en el desarrollo de la bolsa periodontal.

Biopelícula subgingival en sitios sanos de pacientes sanos y sitios sanos de pacientes con periodontitis

La microbiota subgingival de sitios sanos de pacientes sanos difiere de la encontrada en sitios sanos de pacientes con periodontitis crónica, lo que hace pensar que los sitios sanos en pacientes con periodontitis sufrirían mayor riesgo de futura pérdida de inserción. La microbiota que se detectó en sitios con periodontitis fueron espiroquetas y *Porphyromonas gingivalis*; otros investigadores han observado especies del complejo naranja y rojo.

Microbiota asociada con periodontitis agresiva

La periodontitis agresiva es una infección que ataca a sitios periodontales múltiples o individuales (fig. 20-10) dentro de la cavidad bucal.



Fig. 20-9. Periodontitis crónica. Abundante biopelícula supragingival y en el subgingival predominan los complejos naranja, rojo y, en menor proporción, los complejos amarillo, púrpura, azul, verde.



Fig. 20-10. Periodontitis agresiva. Escaso biofilm supragingival.

Los hallazgos encontrados en las formas localizada y generalizada de estas periodontitis son:

- Rápida pérdida de inserción y destrucción ósea.
- Transmisión intrafamiliar.
- Existe una respuesta excesiva del fenotipo de los macrófagos, incluyendo niveles elevados de prostaglandina E₂ (PgE₂) e interleucina-1 β (IL-1 β).

La cantidad de los depósitos microbianos presentes no concuerda con la severidad de la destrucción del tejido periodontal.

Las periodontitis agresivas muestran una evolución rápida, responden peor al tratamiento, se acompañan de un déficit en la funcionalidad de los PMN y el microorganismo más prevalente es *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotipo b; estudios más recientes implican también a *Campylobacter rectus*, *T. forsythia*, genotipos II y IV y a *P. gingivalis*.

Características de algunos microorganismos asociados con enfermedad periodontal

***Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A. actinomycetemcomitans)** Es un importante periodontopatógeno, cocobacilo gramnegativo, requiere de la presencia de CO₂ para su desarrollo en un porcentaje del 5-10%, no produce esporas, forma colonias de aproximadamente 0,5-1 mm de diámetro, tiene forma circular, es transparente, de bordes irregulares. Elabora un número de factores de virulencia, tales como leucotoxinas, bacteriocinas, factor inhibidor de la quimiotaxis, factor inmunosupresor, factor citotóxico, proteínas unidas a los receptores Fc, lipopolisacáridos (LPS), colagenasa, epiteliotoxina; es citotóxico para los leucocitos polimorfonucleares.

El lipopolisacárido (LPS) es una endotoxina que estimula a los macrófagos a producir IL (IL-1 α , IL-1 β) y factor de necrosis tumoral, factores involucrados en la inflamación de los tejidos y reabsorción ósea. Los macrófagos que migran a los sitios infectados con *Aa*, serán estimulados a producir citocinas que estarán involucradas en la inflamación gingival y la reabsorción de hueso.

Porphyromonas gingivalis es un cocobacilo gramnegativo, anaerobio obligado, no móvil. Esta especie presenta una elevada correlación con la progresión de la enfermedad, severidad y pérdida de hueso. Produce un gran número de factores de virulencia: enzimas (hidrolíticas, proteolíticas, lipolíticas y tripsina), otras proteínas y productos terminales de su metabolismo que son activas frente a un amplio espectro de proteínas del huésped. Posee un mecanismo de evasión para las defensas del hospedador, lo que favorece la progresión de la enfermedad.

Otro factor es la capacidad de adherirse a una diversidad de tejidos y células del hospedador, la habilidad de invasión y multiplicación. Las fimbrias se comportan como adhesinas y posibilitan a *P. gingivalis* la adherencia y la coagregación, especialmente observada entre *P. gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, microorganismo considerado **punto** de la microbiota subgingival.

Cuando *P. gingivalis* crece con escasez de hierro (hemina), forma más vesículas y mayor actividad de proteasa tipo tripsina.

Las proteinasas de *Porphyromonas gingivalis* degradan los tipos I y IV de colágeno, principales componentes del tejido conectivo y proteínas de la matriz intercelular.

Se ha demostrado que el lipopolisacárido (LPS) de esta especie induce la producción de IL-6 e IL-8. Las evidencias indican que LPS de *Porphyromonas gingivalis*, especialmente su lípido A, es capaz de estimular la respuesta inflamatoria del hospedador indirectamente a través de la producción de citocinas.

Su cantidad aumenta o disminuye en relación con la reactivación o remisión, respectivamente.

Las **espiroquetas** no son prevalentes en las primeras etapas de colonización microbiana. Sin embargo, con el tiempo aumenta su prevalencia en presencia de tejidos inflamados (fig. 20-11).

Todas las espiroquetas bucales están clasificadas dentro de los treponemas. Las técnicas de biología molecular han revelado la presencia de aproximadamente sesenta especies pertenecientes al género *Treponema* en cavidad bucal, de las cuales cerca de un 80% aún no han sido cultivadas.

En la actualidad se reconocen: *T. denticola*, *T. pectinovorum*, *T. socranskii*, *T. vincentii*, *T. malt-*

hophilum, *T. medium*, *T. amylovorum*, *T. lecithinolyticum* y *T. Parvum*, y la mayoría de estas especies han sido reportadas en diferentes estadios de enfermedad periodontal (fig. 20-12).

Ya se destacó que algunas especies de treponemas han sido relacionadas con enfermedades periodontales necrotizantes asociadas a *Fusobacterium* y otros microorganismos.

La utilización de sondas de DNA y PCR ha reforzado la asociación de algunas especies de *Treponemas* con la severidad y extensión de la lesión periodontal.

Socransky y Haffajee señalaron una relación directa entre *Treponema denticola* y *Treponema socranskii* y la gravedad de la enfermedad periodontal.

Treponema denticola fue encontrado en el biofilm subgingival de pacientes enfermos periodontales y ha mostrado estar disminuido en los sitios tratados con éxito, mientras que no disminuyó en sitios que no respondieron al tratamiento; forma parte del complejo rojo asociado a *P. gingivalis* y *T. forsythia*; por sus adhesinas se coagrega a *P. gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*.

Las espiroquetas pueden dañar las células del hospedador, infiltrarse a través de la matriz extracelular e iniciar o modular la respuesta inflamatoria y de destrucción de los tejidos periodontales. Liberan proteasas: la dentalisina y peptidasas que determinan la capacidad invasora de los treponemas. *Treponema denticola* produce una enzima tipo tripsina, una peptidasa que puede contribuir a la degradación de los sustratos proteicos y degradar o modificar las quimioquinas y otros mediadores inflamatorios.

Tannerella forsythia (anteriormente *Tannerella forsythensis*) fue considerada una especie subgingival relativamente rara. Los estudios inmunológicos con anticuerpos monoclonales y sondas de DNA sugirieron que esta especie se encuentra en niveles muy elevados en la biopelícula subgingival de pacientes con periodontitis crónica.

Este microorganismo también se coagrega a *P. gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*.

Tiene actividad enzimática y proteolítica. Una enzima tipo tripsina es considerada un factor de virulencia.

La figura 20-12 muestra algunas especies identificadas en muestras de la biopelícula subgingival.

Herpes virus

Algunos virus se han asociado con algunas formas clínicas de enfermedad gingivoperiodontal.

Citomegalovirus humano infecta monocitos/macrófagos y linfocitos T, y el virus de Epstein-Barr los linfocitos B periodontales.

Las células inflamatorias infectadas provocan la estimulación de citocinas que destruyen los tejidos y pueden disminuir la capacidad de defensa frente a la exposición bacteriana.

Los sitios infectados con herpes virus tienden a albergar elevadas proporciones de *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Campylobacter rectus* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

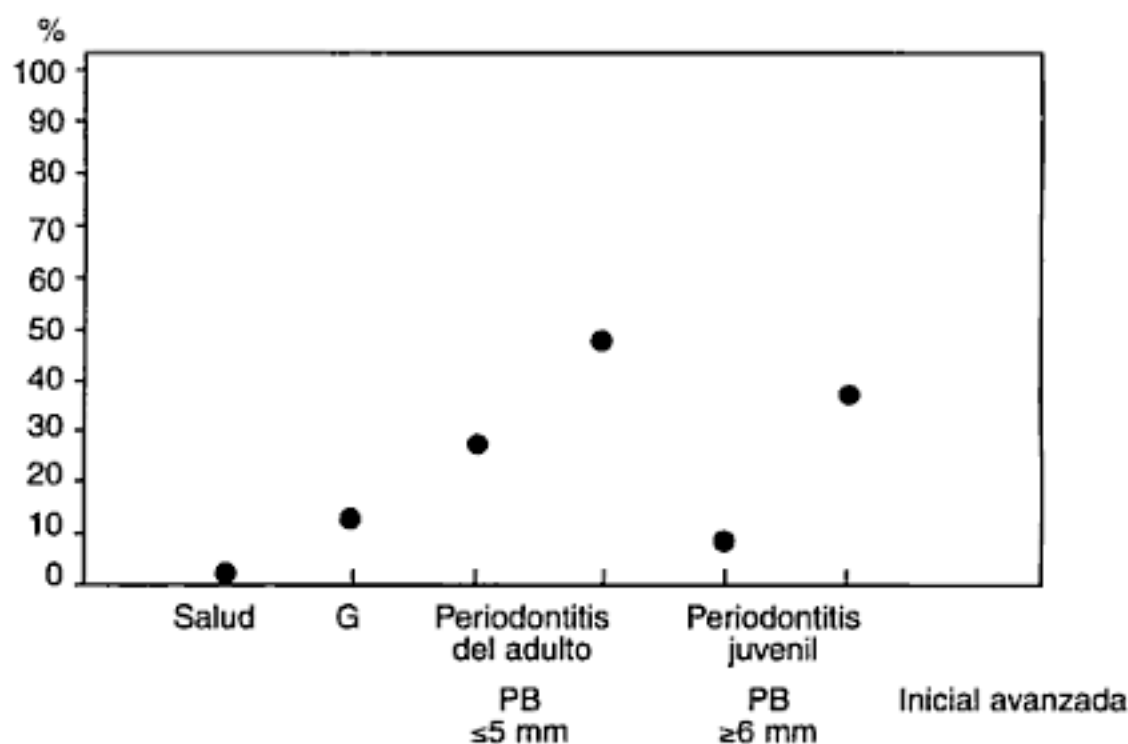
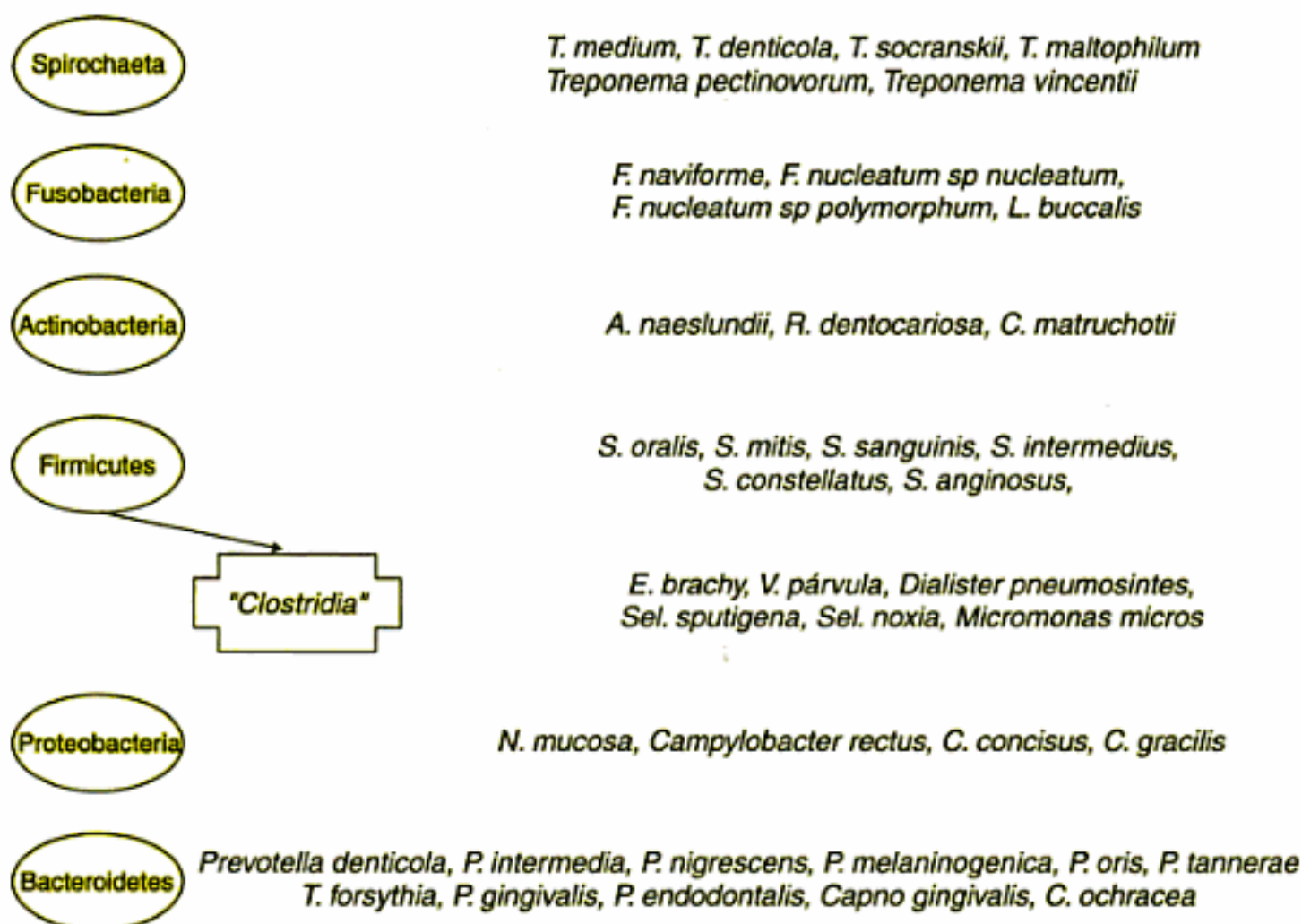


Fig. 20-11. Proporciones relativas de treponemas en la placa subgingival. Las proporciones relativas de esos microorganismos aumentan a medida que se incrementa la profundidad de bolsa (PB).



Adaptado de Socransky y Hajfajee. *Periodontology* 2000,2005

Fig. 20-12. Especies identificadas en muestras de la biopelícula subgingival.

Respuesta del hospedador

La respuesta del hospedador frente a la agresión bacteriana se va a traducir en una respuesta inmune e inflamatoria. Aunque estas respuestas en los tejidos periodontales pueden parecer similares a las que ocurren en otros tejidos, existen diferencias significativas, sobre todo por la existencia del epitelio de unión con sus características particulares, y la biopelícula subgingival, con una gran cantidad de bacterias y de sus productos con potenciales inductores de respuestas diferentes. Por lo tanto, las respuestas pueden ser exageradas y producir destrucción celular y tisular, involucrando al tejido conectivo y óseo.

Ambas respuestas están interrelacionadas entre sí y los componentes de ambas interactúan dinámicamente durante el proceso de periodontitis (fig. 20-13).

Las periodontitis van a provocar la destrucción del hueso y del tejido conectivo incluyendo el colágeno, proteoglucanos y otros componentes de la matriz extracelular.

Este proceso de destrucción está constantemente ajustado por las interacciones entre las bacterias y el hospedador.

La destrucción de la matriz extracelular está determinada por el balance existente entre las

metaloproteinasas y sus inhibidores; localmente regulado por la exposición de la IL-1 α , IL-1 β , IL-10, factor de crecimiento transformador β (TGF- β) y LPS. La destrucción ósea se debe al balance entre reabsorción y formación de hueso. Los factores involucrados en esta destrucción son la PGE2, IL-1 β y, en menor grado, el TNF- α y IL-6. Factores circulantes, como las hormonas esteroideas, la paratiroidea, la calcitonina y la vitamina D3, podrían regular el proceso de remodelado óseo.

Respuesta inflamatoria e inmune

Los eventos moleculares y celulares que ocurren inicialmente se deben a una respuesta "normal" del hospedador frente a la biopelícula subgingival, pero los productos bacterianos específicos y las características individuales modifican el proceso. En un primer momento, las bacterias y los productos que componen el biofilm interactúan con el epitelio de unión y penetran dentro del tejido conectivo subyacente. El tejido conectivo responde con una vasodilatación y un incremento del número de leucocitos, sobre todo neutrófilos, que migran para entrar en el epitelio y en el surco. A la vez se destruye el colágeno y otros componentes de la matriz extracelular perivascular y se produ-

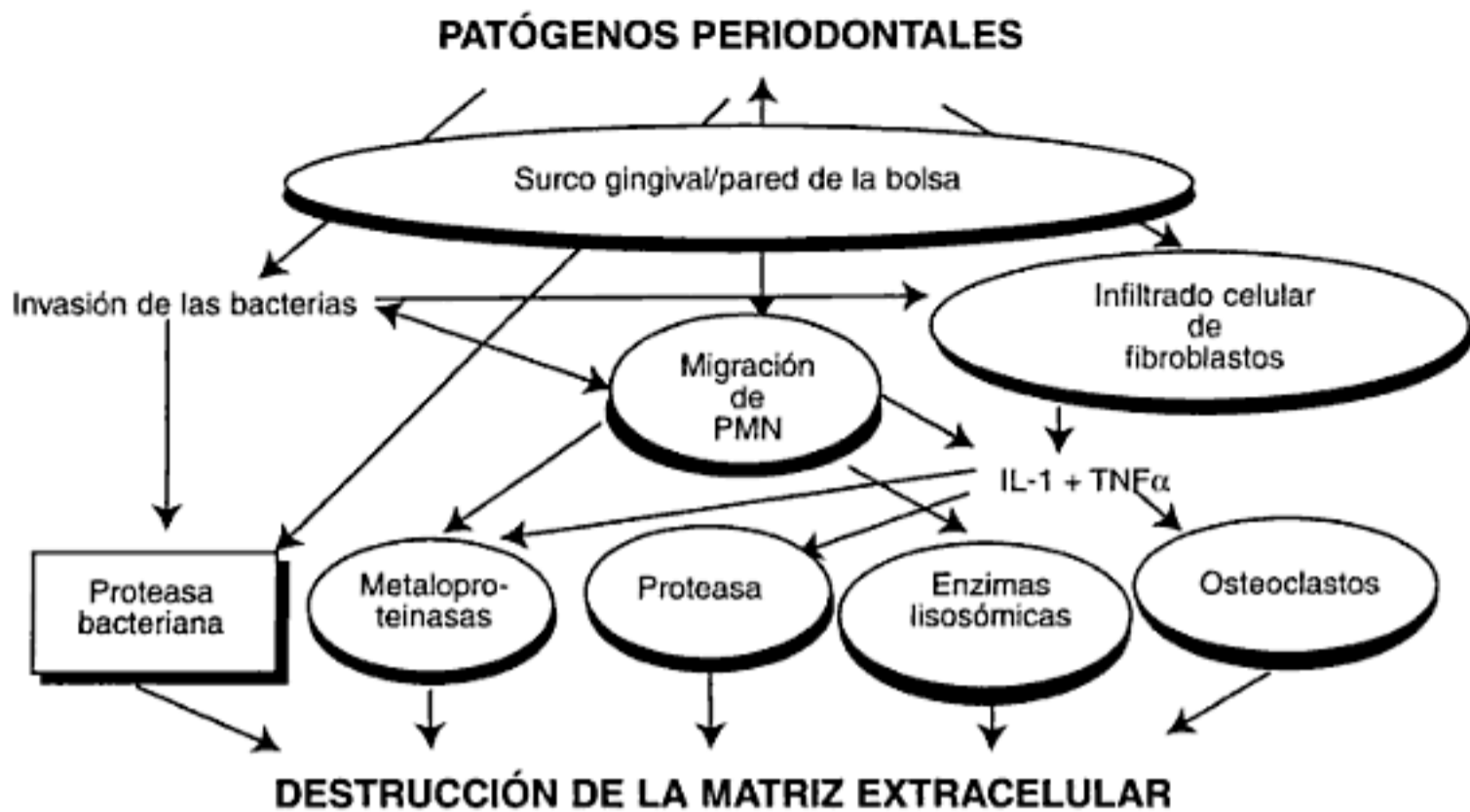


Fig. 20-13. Interacción entre los patógenos periodontales y la respuesta del hospedador. (Adaptada de Tonetti MS, 1994, Nair PNR, 1997)

cen cambios anatómicos hasta formar la bolsa periodontal. Posteriormente, hay un aumento del infiltrado leucocitario dominado por linfocitos, incluyendo las células B y T. Al evolucionar, la lesión es dominada por las células B, aunque también hay células T, macrófagos y neutrófilos. Las células B se diferencian para la producción de células plasmáticas productoras de anticuerpos (fig. 20-14).

Pueden distinguirse cuatro fases diferentes en la patogénesis de la periodontitis:

Primera fase: los elementos vasculares y epiteliales responden a los cambios bacterianos.

Al exponerse el epitelio a los productos bacterianos, como lipopolisacáridos (LPS), ácidos grasos, como el butírico y propiónico o péptidos, provoca una respuesta con una serie de mediadores pro-inflamatorios y citocinas, como interleucina-8 (IL-8), prostaglandina E2 (PGE2), interleucina-1 α (IL-1 α), metaloproteinasas y factor de necrosis tumoral α (TNF- α). Estos mediadores facilitan la llegada de los neutrófilos.

Segunda fase: los tejidos responden a las primeras señales.

A la fase anterior se incorporan el sistema de proteínas séricas y la activación de los macrófagos. El infiltrado vascular y la activación del complemento amplifican la respuesta inflamatoria local y producen una mayor activación endotelial. Se concentran más neutrófilos, y la secreción localizada de enzimas inicia la destrucción de la matriz extracelular.

Tercera fase: activación de las células mononucleares para elaborar la respuesta inmune local y sistémica.

En esta fase se produce un aumento de la actividad celular inflamatoria de los tejidos y se producen cambios epiteliales asociados con la bolsa periodontal. Tan pronto como comienza la inflamación, el exudado de los vasos es, predominantemente, de células mononucleares. Los productos bacterianos y las citocinas activan las células mononucleares tisulares que dan la respuesta inmune local. Posteriormente, la respuesta por los anticuerpos es activada para controlar la infección bacteriana. Todo ello estará dirigido por mediadores de la inflamación como los distintos tipos de interleuquinas tipo-1, 2, 3, 4, 5, 6 y 8, TNF- α y β , e interferón γ .

Cuarta fase: determinantes de los componentes protectores en el surco y balance de colágeno en los tejidos.

Esta fase representa la pérdida inicial de inserción, además de un aumento de la actividad de las células mononucleares en los tejidos. Los fibroblastos comienzan a secretar diferentes sustancias y las células plasmáticas son las predominantes. Todo esto crea un ambiente en el que los diferentes productos aumentan la destrucción de los tejidos conectivo y óseo. Este proceso de destrucción está constantemente ajustado por las interacciones entre las bacterias y el hospedador. Ya se citaron factores involucrados en el proceso destructivo.

Predisposición genética

Los factores genéticos que modifican la respuesta del individuo frente a las agresiones microbiológicas son los determinantes de la susceptibilidad a las periodontitis, afectan a la tasa de progresión y determinan la severidad de la enfermedad.

Los rasgos genéticos que pueden aumentar la susceptibilidad son los siguientes:

- Anormalidades en la función de los fagocitos, demostrada en el 75% de los individuos con periodontitis agresiva.
- Capacidad reducida para producir inmunoglobulina G2 (IgG2). Es el mayor anticuerpo sérico que se produce en respuesta a la infección periodontal.
- Polimorfismos del TNF- α . Este polimorfismo se ha asociado con mayor susceptibilidad a infecciones.
- Función alterada de monocitos y macrófagos. La respuesta de estas células viene marcada genéticamente. La alteración, en los pacientes susceptibles, consiste en la liberación significativamente aumentada de TNF- α , IL-1 β y PGE2, con respecto a los individuos resistentes.
- Polimorfismo de IL-1 β . Los individuos con uno de los genotipos específicos producen cuatro veces más IL-1 β que los genotipos negativos y

tienen veinte veces más probabilidad de padecer periodontitis a partir de los 40 años.

- Gen de la ciclooxigenasa 1. Esta enzima se encarga de producir PGE2 y la susceptibilidad está determinada por una producción excesiva de PGE2 (fig. 20-14).

Factores ambientales o adquiridos

La respuesta inmune del individuo puede modificarse por factores ambientales o adquiridos, como el hábito tabáquico o el estrés.

- **Tabaco:** es el factor externo adquirido que más se ha asociado con periodontitis y, especialmente, con periodontitis avanzada. Sus efectos son variados. Además de modificar las características clínicas, es capaz de reducir la tensión de oxígeno creando un ambiente favorable para la colonización y crecimiento de bacterias gram-negativas. También tiene efectos importantes sobre el sistema inmune. El tabaco afecta la función leucocitaria, altera la quimiotaxis y la fagocitosis de los neutrófilos, y reduce la producción de anticuerpos (fig. 20-14).
- **Estrés:** factores psicoemocionales, como el estrés, pueden ocasionar una depresión de la respuesta inmune frente a la infección periodontal. La gingivitis ulceronecrotizante fue la

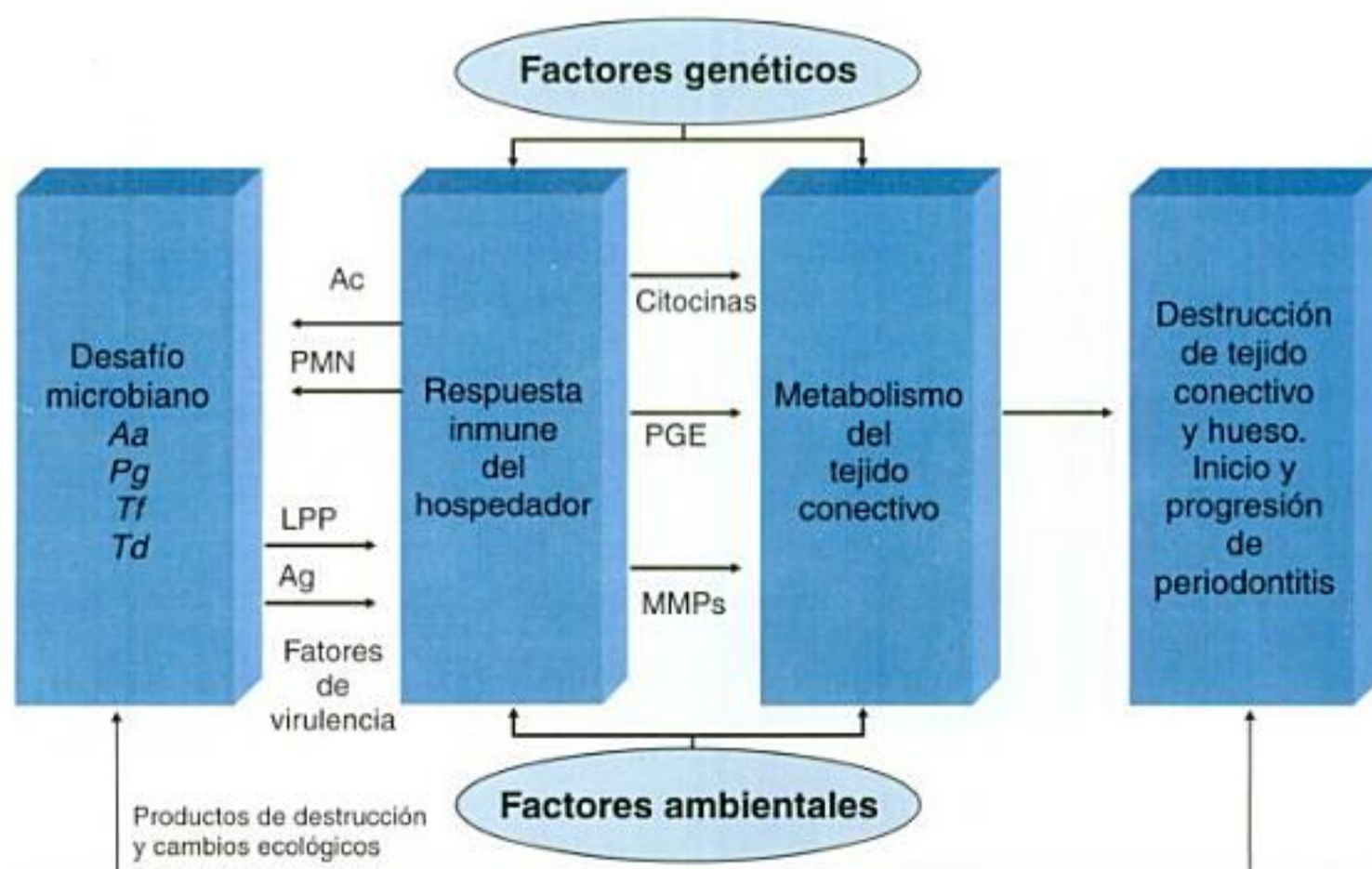


Fig. 20-14. Patogénesis de periodontitis. Influencia de los factores genéticos y ambientales. (Adaptado de Lamster, 2006)

primera patología relacionada con el estrés. Se requieren mayor cantidad de estudios para demostrar el papel del estrés en la enfermedad periodontal.

Cálculo dental

El cálculo es esencialmente biopelícula mineralizada, cubierta por otra no mineralizada muy adherente. Puede ser supragingival o subgingival, según se encuentre por encima o por debajo del margen gingival.

Cálculo supragingival

Las glándulas salivales son la fuente principal de las sales minerales; el cálculo supragingival es prevalente sobre las superficies linguales de los dientes anteroinferiores próximos a la desembocadura del conducto de Wharton de las glándulas submaxilares y sobre las superficies vestibulares de los molares superiores cercanos a la desembocadura del conducto de Stensen. No obstante, pueden observarse cálculos supragingivales sobre otras superficies. Son de color blanco amarillento y pueden ser coloreados por sustancias, como tabaco, café, etc. (fig. 20-15).

Cálculo subgingival

Los cálculos formados por debajo del margen gingival y dentro de la bolsa periodontal son denominados cálculos subgingivales; no son la causa de la formación de la bolsa, pero posibilitan mayor adherencia de microorganismos.

Los cálculos subgingivales son duros; por lo general, de color oscuro, negro o verdoso, aunque a veces pueden ser blanquecinos; no se forman por extensión directa del cálculo supragingival, sino por mineralización de la biopelícula subgingival.



Fig. 20-15. Cálculo supragingival en la zona lingual de incisivos inferiores.

El exudado inflamatorio es la fuente de sales minerales. La saliva no está involucrada en la formación de estos cálculos; por lo tanto, la distribución de estos depósitos no tiene relación con los supragingivales. Pueden encontrarse sobre cualquier superficie de raíz que posea bolsa periodontal.

El cálculo puede penetrar en el cemento por atrape mecánico en las irregularidades de la superficie cementaria.

La calcificación puede comenzar después de la deposición bacteriana.

El tiempo de calcificación parece variar de manera considerable entre los dientes y los individuos. En la zona supragingival las superficies más cercanas a los orificios de las glándulas salivales parecen mineralizarse primero. En la zona subgingival, el principio de la mineralización es más lento y no se relaciona con el patrón de la calcificación supragingival.

El mecanismo de mineralización parece ser el mismo en las dos áreas, aun cuando la fuente de sales minerales es diferente.

La biopelícula se calcifica entre los siete días a varios meses; pero siempre quedan zonas no mineralizadas sobre la superficie.

Los estudios de microscopía electrónica sobre el desarrollo del cálculo apoyan las observaciones realizadas con el microscopio de luz: la mineralización generalmente se produce primero dentro de la matriz interbacteriana, luego alrededor de las paredes de las bacterias y, finalmente, dentro de las células bacterianas.

Los cristales minerales se depositan en una matriz compuesta de microorganismos a menudo filamentosos envueltos en una sustancia granular, fibrilar o amorfa, que deriva de los microorganismos y de los líquidos bucales respectivos.

La biopelícula que cubre el cálculo supragingival está compuesto, principalmente, de organismos filamentosos orientados en forma perpendicular a las porciones calcificadas subyacentes. El cálculo subgingival generalmente está cubierto por cocos, bacilos y filamentos que no tienen patrón de orientación definido.

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Con el reconocimiento de la naturaleza infecciosa de las periodontitis se ha introducido el diagnóstico microbiológico tanto en la fase diagnóstica como en la evaluación de la respuesta a las diferentes modalidades de tratamiento.

Son numerosos los métodos desarrollados para el diagnóstico microbiológico en los últimos tiempos.



Fig. 20-16. Elementos para toma de placa subgingival. Conos de papel. Medio de transporte.

Las pruebas diagnósticas para estudiar la presencia de microorganismos se dividen en cinco clases: microscópicas, cultivos, inmunológicas, enzimáticas y genéticas.

Estudios microscópicos

La movilidad y los morfotipos microbianos de la biopelícula subgingival se han estudiado por microscopía de contraste de fase y de campo oscu-

ro. Estos métodos permitieron relacionar la destrucción periodontal con la proporción relativa de espiroquetas y microorganismos móviles.

La observación microscópica no permite diferenciar géneros y especies microbianas.

Cultivo bacteriano

A pesar del avance del resto de las técnicas, el cultivo sigue siendo el método de referencia (*gold standard*) para el diagnóstico microbiológico, ya que determina la presencia de las diferentes especies bacterianas, valora la susceptibilidad de éstas a los distintos antibióticos y permite estimar el número total de bacterias aisladas.

Para la toma de la muestra microbiológica (fig. 20-16) se elimina de la biopelícula supragingival con curetas, se frota la superficie dentaria con gasa estéril, se aísla el sector con rollos de algodón estéril y se toma biopelícula subgingival con 2-3 puntas de papel estériles número 30-35 insertadas durante 15-30 segundos en la bolsa periodontal. Luego se las coloca en un tubo que contiene medio de transporte VMGA III para ser procesado en el laboratorio (fig. 20-17).

El medio VMGAIII es un medio de transporte reducido que mantiene la viabilidad de los microorganismos.



Fig. 20-17. Toma de muestra de placa subgingival. A. Cono introducido dentro de la bolsa periodontal. B. Una vez retirado el cono se lo sumerge en medio de transporte. C. Toma con cureta periodontal. D. Después de retirar la cureta se la sumerge en medio de transporte.

Una vez en el laboratorio, las muestras se dispersan en un sonicador, se distribuyen en placas de Petri que contienen medios selectivos y no selectivos (los medios no selectivos cuantifican las colonias que se desarrollan. Los medios selectivos emplean distintas sustancias que impiden el crecimiento de determinadas especies y facilitan el desarrollo de otras). Las placas son cultivadas bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas.

Luego del período de incubación, las colonias son aisladas, repicadas e identificadas utilizando:

- Morfología de la colonia.
- Tinción de Gram.
- Pruebas bioquímicas.
- Análisis cromatográficos de los productos metabolizados.

Como aspectos negativos, cabe destacar que existen bacterias íntimamente relacionadas con la etiología de la periodontitis que no son cultivables y, por tanto, no detectables por medio de esta técnica.

Métodos de diagnóstico inmunológico

Los métodos inmunológicos realizan la detección de las bacterias de forma indirecta.

Estas pruebas se basan en el empleo de anticuerpos específicos contra los organismos a estudiar. Los anticuerpos (Ac) utilizados en los análisis inmunológicos se unen a los antígenos (Ag) bacterianos formando complejos Ag-Ac y, de esta forma, se detectan los microorganismos.

Las técnicas desarrolladas son la inmunofluorescencia directa, la inmunofluorescencia indirecta, la citometría de flujo, la aglutinación por látex y el test de ELISA (*enzyme-linked immunoabsorbent assay*) (véase cap. 31).

Todas estas técnicas presentan una sensibilidad y especificidad ligeramente superior a las del cultivo. Sin embargo, a diferencia de la anterior, no sirven para evaluar la susceptibilidad bacteriana a los antibióticos. La reacción cruzada de anticuerpos constituye el mayor problema de estas técnicas. Otra desventaja importante radica en que la prueba sólo detecta aquellos microorganismos con antígenos accesibles.

Métodos de detección enzimática

No detectan bacterias de forma directa, sino que se determina su presencia por las enzimas que ellas producen. Las enzimas utilizadas incluyen colagenasas, peptidasas, enzimas análogas a la tripsina, proteinasas neutras y elastasas. Todas estas enzimas tienen un gran potencial destructivo de los tejidos periodontales.

La presencia de enzimas específicas para determinadas especies microbianas puede ser usada como método diagnóstico, por ejemplo BANA (benzoyl arginina naftilamida).

La reacción BANA posibilita el diagnóstico de ciertas especies bacterianas (*T. forsythia*, *P. gingivalis*, *Capnocytophaga* y *T. denticola*), capaces de producir la enzima tripsina como factor de virulencia. Una reacción BANA positiva pone de manifiesto la presencia de cualquiera de estas cuatro especies bacterianas de una manera rápida y sencilla. Tiene baja especificidad y sensibilidad.

Cuando se utiliza esta técnica, las concentraciones de microorganismos presentes en los sustratos enzimáticos deben ser elevadas, porque de otra forma no podrán ser detectadas; por otra parte, no se obtiene información sobre susceptibilidad a los antibióticos.

Cuadro 20-4. Pruebas para detección de periodontopatógenos

Prueba	Ventajas	Inconvenientes
Cultivo	- Detecta amplio número de bacterias en una muestra - Determina susceptibilidad a antimicrobianos	- Complejidad - Tiempo - Algunas bacterias exigentes
Enzimoanálisis (EIA)	- Específico - Relativamente económico - Rápido - Pruebas de referencia	- Reacciones cruzadas - No evalúan susceptibilidad - Requieren equipos costosos
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y sondas de DNA	- Específica - Sensible	- Equipos y reactivos costosos - Entrenamiento especial - No evalúa susceptibilidad
Pruebas enzimáticas	- Específica - Rápida - Económica	- Detecta grupos bacterianos

Técnicas de biología molecular

Se basan en la aplicación de los métodos de análisis genéticos para la detección e identificación de microorganismos de la biopelícula supra y subgingival.

Los principios de estas técnicas se basan en el análisis del DNA o el RNA. Estas técnicas moleculares se basan en que los microorganismos poseen un material genético (RNA o DNA) que es único para cada microorganismo (véase cap. 28).

La técnica de PCR se utiliza en la detección de las principales bacterias periodontopatógenas; sin embargo, presenta limitaciones para cuantificar las cantidades en que se presentan cada una de ellas en las muestras recogidas. Se han desarrollado técnicas específicas de PCR cuantitativo (*real time*

RCP), que permiten cuantificar proporciones de *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *A. Actinomycetemcomitans*, y debido a su rapidez y sensibilidad son de gran utilidad en los estudios epidemiológicos.

La mayor ventaja de las pruebas genéticas es que no utilizan microorganismos vivos. Su mayor inconveniente es su incapacidad para facilitar información sobre la sensibilidad a los antibióticos.

Para la toma de la muestra microbiológica se procede igual que para la toma de muestra para cultivo, pero las puntas se colocan en un tubo Eppendorf de plástico que contiene Buffer, se mantiene a -70°C para luego ser enviada al laboratorio.

El cuadro 20-4 muestra las ventajas y desventajas de las pruebas para detección de periodontopatógenos.

Resumen

La evidencia indica que la enfermedad periodontal es compleja y multifactorial.

Se considera que escasas bacterias están asociadas con las enfermedades periodontales y numerosas son oportunistas y ocupan un nicho ecológico posiblemente en respuesta a cambios producidos en el microambiente periodontal.

Se ha demostrado que varios microorganismos poseen factores de virulencia relacionados con la destrucción periodontal.

Es probable que las respuestas inflamatorias del hospedador desempeñen un papel fundamental en la defensa y como mediadoras de la destrucción observada.

Factores ambientales y genéticos condicionan la susceptibilidad del individuo, la colonización por microbiota patógena y la severidad de la lesión.

Se necesitan más investigaciones para tener mayor conocimiento de la naturaleza multifactorial de la enfermedad periodontal y de los mecanismos que llevan a la destrucción del aparato de inserción periodontal. El conocimiento de estos aspectos será de gran valor en el diagnóstico para mejorar las opciones terapéuticas actuales.

Hoy en día los métodos de diagnóstico microbiológico pueden ser importantes para definir el tratamiento periodontal, especialmente en los pacientes con periodontitis que no responden al tratamiento periodontal convencional.

Preguntas de revisión

1. ¿Cuáles son postulados de Socransky aplicados a microorganismos potencialmente patógenos en las distintas formas clínicas de enfermedad periodontal?
2. ¿Qué complejos microbianos son observados en las etapas iniciales de formación de biopelículas?
3. ¿Cuáles son los complejos microbianos asociados con periodontitis crónica?
4. ¿Podría mencionar las características y los determinantes bioquímicos de la virulencia de *P. gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*?
5. ¿Cómo se realiza la toma de muestra de placa subgingival para estudio microbiológico por cultivo?

BIBLIOGRAFÍA

- Alaluusua S, Asikainen S, Lai C. Intrafamilial transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J Periodontol, 1991; 62(3):207-10.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol; 1999; 4:1-6.
- Armitage GC. Classifying periodontal diseases-a long-standing dilemma. Periodontology 2000, 2002; 30:9-23.
- Bascones A, Figuero E. Las enfermedades periodontales como infecciones bacterianas. Med Oral Patol Cir Bucal, 2004; 9 suppl.: 92-107.
- Bascones A, Noronha S, Gómez M, González Moles MA, Villaroel Borrego M. Tissue destruction in periodontitis: bacteria or cytokines fault? Quintessence Int, 2005; 36(4):299-306.
- Busscher HJ, van der Mei HC. Physico-chemical interactions in initial microbial adhesion and relevante for biofilm formation. Adv Dent Res, 1997; 11:24-32.
- Casas Hernández A. Diagnóstico y respuesta al tratamiento no quirúrgico en periodontitis. Influencia de la metodología microbiológica. Tesis de Doctorado, 2004; ISBN: 84-669-2816-2. <http://www.ucm.es/BUCEM/tesis/odo/ucm-t28224.pdf>.
- Contreras A, Slots J. Herpesviruses in human periodontal disease. J Periodont Res, 2000; 35:3-16.
- Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D, Caldwell D, Korber D, James G. Biofilms the customized microniche. J Bacteriol, 1994; 176:2173-2242.
- Costerton JW. Introduction to biofilms. Int J Antimicrob Agents, 1999; 11:217-221.
- Costerton JW, Veeh R, Shirtliff M, Pasmore M, Post C, Ehrlich G. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. J Clin Invest, 2003; 15:112(10):1466-77.
- Dewhirst FE, Tamer MA, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Boches SK, Galvin JL, Paster BJ. The diversity of periodontal spirochetes by 16S rRNA analysis. Oral Microbiol Immunol, 2000; 15:196-202.
- Donlan RM. Biofilms: Microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis, 2002; 8:9:881-890.
- Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clinical Microbiology Rev, 2002; 15:167-93.
- Ezzo PJ, Cutler CW. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. Periodontology 2000. 2003; 32:24-35.
- Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, Brissette C. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Periodontology 2000, 1999; 20:136-67.
- Greenstein G. Microbiologic assessments to enhance periodontal diagnosis. J Periodontol, 1988; 59(8):508-515.
- Greenstein G, Lamster I. Bacterial transmission in periodontal diseases: a critical review. J Periodontol, 1997; 68:421-431.
- Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Matcheti EE et al. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. J Periodontol, 1994; 65:260-267.
- Haber J. Smoking is a major risk factor for periodontitis. Curr Opin Periodontol, 1994;12-18.
- Haffajee A, Socransky S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontology 2000, 1994; 5:78-111.
- Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A, Pollack RP, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. J Clin Periodontol, 1998; 25(5):346-353.
- Haffajee AD, Arguello EI, Ximenez-Fyvie LA, Socransky SS. Controlling the plaque biofilm. Int Dent J, 2003; 53:191-9.
- Haffajee AD, Borgen A, Hasturk H, Feres M, López NJ, Socransky SS. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. J Clin Periodontol, 2004; 31:996-1002.
- Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. Periodontology 2000, 1999; 20:168-238.
- Jenkinson HF, Lamont RJ. Streptococcal adhesion and colonization. Crit Rev Oral Biol Med, 1997; 8:175-200.
- Kinane DF, Podmore M, Murray MC, Hodge PJ, Ebersole J. Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents. Periodontology 2000, 2001; 26:54-91.
- Kolenbrander PE, London J. Adhere today, here tomorrow:oral bacteria adherente. J Bacteriol, 1993; 175:3247-3252.
- Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Eglund PG, Foster JS, Palmer RJ Jr. Communication among oral bacteria. Microbiol Mol Biol Rev, 2002; 66:486-505.
- Kornman KS, Crane A, Wang HY, Di Giovine FS, Newman HN, Pirk FW et al. The interleukin 1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. J Clin Periodontol, 1997; 24:72-77.
- Lamster IB. Antimicrobial mouthrinses and the management of periodontal diseases: introduction to the supplement. J Am Dent Assoc, 2006; 137, 5S-9S.
- Lasa I, del Pozo JL, Penadés JR, Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. An Sist Sanit Navar, 2005; 28 (2):163-175.
- LeResche L, Dworkin SF. The role of stress in inflammatory disease, including periodontal disease: review of concepts and current findings. Periodontology 2000, 2004; 30:91-103.
- Liébana J, Castillo AM, Álvarez M. Enfermedades periodontales: consideraciones microbiológicas. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2004; 9. Suppl:S75-91.
- Ling L, Ho C, Wu C, Chen Y, Hung S. Association between human herpesviruses and the severity of periodontitis. J Periodontol, 2004; 75:1479-1485.
- Listgarten MA, Slots J, Rosenberg J, Nitkin L, Sullivan P, Oler J. Clinical and microbiological characteristics of treated periodontitis patients on maintenance care. J Periodontol, 1989; 60(8):452-459.
- Listgarten MA, Loomer PM. Microbial identification in the management of periodontal diseases. A systematic review. Ann Periodontol, 2003; 8(1):182-191.
- Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. J Periodontol, 1965; 36:177-187.
- Löe H, Theilade E, Jensen SB, Schiött CR. Experimental gingivitis in man. III. The influence of antibiotics on gingival plaque development. J Periodont Res, 1967; 2:282-289.
- Madianos PN, Bobetsis GA, Kinane DF. Is periodontitis associated with an increased risk of coronary heart disease and preterm and/or low birth weight births? J Clin Periodontol, 2002; 29 Suppl. 3:22-36.
- Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. Adv Dent Res, 1994; 8:263-271.
- Marsh PD, Bradshaw DJ. Microbial community aspects of dental plaque. En: Newman HN, Wilson M, eds. Dental plaque revisited. Oral biofilms in health and disease. UK: BioLine, 1999; 237-253.
- Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? SGM Special Lectura. Microbiology, 2003; 149:279-94.
- Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community – implications for health and disease. BMC Oral Health, 2006; 6(Suppl. 1):S14. doi:10.1186/1472-6831-6-S1-S14 <http://www.biomedcentral.com/1472-6831/6/S1/S14>.
- Matesanz P, Figuero E, Jiménez MJ, Aguilar L, Llor C, Prieto J, Bascones A. Del conocimiento de la etiología bacteriana al tratamiento y la prevención de las infecciones más prevalen-

- tes en la comunidad: las infecciones odontológicas. *Rev Esp Quimioterap*, 2005; 18(2):136-145.
- Mattson JS, Cerutis R. Diabetes Mellitus: a review of the literature and dental implications. *Compen Contin Educ Dent*, 2001; 22(9):757-773.
- Mombelli A, Schmid B, Rutar A, Lang NP. Local antibiotic therapy guided by microbiological diagnosis. *J Clin Periodontol*, 2002; 29(8):743-749.
- Moore WEC, Moore LVH. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol* 2000, 1994; 5:66-77.
- Nares S. The genetic relationship to periodontal disease. *Periodontology* 2000, 2003; 32:36-49.
- Nazar J. Biofilms bacterianos. *Rev Otorrinolaringol Cir Cabeza Cuello*, 2007; 67:61-72.
- Newman HN, Socransky S, Savitt ED, Propas DA, Crawford A. Studies of the microbiology of periodontitis. *J Periodontol*, 1976; 47:373-379.
- Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology* 2000, 2004; 36(1):14-26.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol*, 1996; 1:821-878.
- Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology* 2000, 1997; 14:9-11.
- Page RC, Beck JD. Risk assessment for periodontal diseases. *Int Dent J*, 1997; 47:61-87.
- Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology* 2000, 1997; 14(1): 216-248.
- Pérez Luyo AG. La biopelícula: una nueva visión de la placa dental. *Rev Estomatol Herediana*, 2005;15(1):82-85.
- Petit M, van Steenberg T, Scholte L, van der Velden D, de Graaff J. Epidemiology and transmission of *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* among children and their family members. *J Clin Periodontol*, 1993; 20:641-650.
- Preus H, Olsen I, Namork E. Association between bacteriophage-infected *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and rapid periodontal destruction. *J Clin Periodontol*, 1987; 14:245-247.
- Preus H, Olsen I. Possible transmission of *A. actinomycetemcomitans* from a dog to a child with rapidly destructive periodontitis. *J Periodont Res*, 1988; 23:68-71.
- Preus H, Zambon J, Dunford R, Genco R.: The distribution and transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families with established adult periodontitis. *J Periodontol*, 1994; 65(1):2-7.
- Prosser BL, Taylor D, Dix BA, Cleeland R. Method of evaluating effects of antibiotics on bacterial biofilm. *Antimicrob Agents Chemother*, 1987; 31(10):1502-1506.
- Sanz M, Lau L, Herrera D, Morillo JM, Silva A. Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review. *J Clin Periodontol*, 2004; 31:1034-1047.
- Sanz M, van Winkelhoff AJ, Herrera D, Delleijm-Kippuw N, Simon R, Winkel E. Differences in the composition of the subgingival microbiota of two periodontitis populations of different geographic location. A comparison between Spain and The Netherlands. *European J Dental Science*, 2000;108:383-92.
- Schacher B, Baron F, Roßberg M, Wohlfeil M, Arndt R, Eickholz P. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* as indicator for aggressive periodontitis by two analysing strategies. *J Clin Periodontol*, 2007; 34:566-573. doi: 10.1111/j.1600-051X.2007.01080.x.
- Serrano-Granger J, Herrera D. La placa dental como biofilm. ¿Cómo eliminarla? *RCOE*, 2005; 10(4):431-439.
- Slots J. The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. *Scandinavian J Dent Res*, 1977; 85:114-121.
- Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontal disease: introduction. *Periodontology* 2000, 1999; 20:7-13.
- Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial aetiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol*, 1992; 63:322-331.
- Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontology* 2000, 1994; 5(1):7-25.
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, 1998; 25:134-144.
- Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilm: difficult therapeutic targets. *Periodontology* 2000, 2002; 28(1):12-55.
- Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000, 38:135-187, 2005.
- Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, 2001; 14:358:135-138.
- Stoodley P, Dodds I, Boyle JD, Lappin-Scout HM. Influence of hydrodynamics and nutrients on biofilm structure. *J Appl Microbiol*, 1999; 85:518-519.
- Stoodley P, Saber K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol*, 2002; 56:187-209.
- Tanner ACR, Haffer C, Bratthall T, Visconti RA, Socransky SS. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J Clin Periodontol*, 1979; 6:278-307.
- Theilade E, Wright WH, Jensen SB, Löe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodont Res*, 1966; 1:1-13.
- Tinoco E, Sivakumar M, Preus H.: The distribution and transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families with localized juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol*, 1998; 25:99-105.
- Umeda M, Takeuchi Y, Noguchi K, Huang Y, Koshy G, Ishikawa I. Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota. *Periodontology* 2000, 2004; 36:98-120.
- Van Steenberg T, Petit M, Scholte LHM, van der Velden U, de Graaff J. Transmission of *Porphyromonas gingivalis* between spouse. *J Clin Periodontol*, 1993; 20:340-345.
- Van Winkelhoff A, Tjihof C, de Graaff J. Microbiological and clinical results of metronidazol plus amoxicillin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J Periodontol*, 1992, 63:52-57.
- Vroom JM, De Grauw KJ, Gerritsen HC, et al. Depth penetration and detection of pH gradients in biofilms by two photon excitation microscopy. *Appl Environ Microbiol*, 1999; 65:3502-3511.
- Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrabder PE. Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 1996; 50: 513-52.
- Willis SG, Smith KS, Dun VL, Gapter LA, Riviere KH, Riviere GR. Identification of seven *Treponema species* in health-and-disease-associated dental plaque by nested PCR. *J Clin Microbiol*, 1999; 37: 867-869.
- Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol*, 2000; 27(9):648-657.
- Xu KD, McFeters GA, Stewart PS. Biofilm resistance to antimicrobial agents. *Microbiology*, 2000; 146:547-549.
- Yamano R, Ohara M, Nishikubo S, Fujiwara T, Kawamoto T, Veno Y, et al. Prevalence of cytolethal distending toxin pro-

- duction in periodontopathogenic bacteria. *J Clin Microbiol*, 2003; 41:1391-1398.
- Yang H, Huang Y, Chou M. Occurrence of *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in periodontally diseased and healthy subjects. *J Periodontol*, 2004; 75:1077-83.
- Yoshihara A, Seida Y, Hanada N, Miyazaki H. A longitudinal study of the relationship between periodontal disease and bone mineral density in community-dwelling older adults. *J Clin Periodontol*, 2004; 31:680-684.
- Zambon J, Christersson L, Slots J. *Actinobacillus actinomyces-temcomitans* in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families. *J Periodontol*, 1983; 54:707-711.

MICROBIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES GINGIVOPERIODONTALES, DE LA PERIIMPLANTITIS, DE LOS CONDUCTOS RADICULARES Y DE LOS PROCESOS PERIRRADICULARES

2º PARTE

ANTIMICROBIANOS LOCALES Y SISTÉMICOS EN EL TRATAMIENTO DE LAS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DE ENFERMEDAD PERIODONTAL

Susana Piovano

Contenidos

Control mecánico de la biopelícula dental. Antimicrobianos sobre la biopelícula supragingival y subgingival. Resistencia en las biopelículas. Antimicrobianos sobre la biopelícula supragingival. Otros antisépticos. Antimicrobianos en el control de la infección subgingival. Antimicrobianos sistémicos.

Objetivos

- Identificar los antimicrobianos locales utilizados como adyuvantes del control mecánico sobre el biofilm supragingival y subgingival.
- Describir las formas de aplicación de los antimicrobianos locales según el frente de avance de la infección periodontal.
- Enumerar los antimicrobianos sistémicos utilizados en algunas formas clínicas de enfermedad periodontal.
- Citar la oportunidad de indicar antimicrobianos sistémicos según el tipo de enfermedad periodontal y los microorganismos infectantes.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades gingivoperiodontales son enfermedades infecciosas, y el control del bio-film es el objetivo principal en la prevención y el tratamiento.

La asociación entre las bacterias y el comienzo y la progresión de las enfermedades gingivoperiodontales ha incrementado el interés en la aplicación de antimicrobianos locales o sistémicos como adyuvantes del tratamiento mecánico.

A nivel supragingival pueden utilizarse distintos antisépticos, y a nivel subgingival, antisépticos y antibióticos. Para que estos productos consigan mayor efecto, se requiere realizar control mecánico para desorganizar previamente la biopelícula.

CONTROL MECÁNICO DE LA BIOPELÍCULA DENTAL

Los estudios muestran que la enfermedad puede ser prevenida y minimizada mediante programas de control de la biopelícula o biopelícula. El control mecánico constituye el método más importante e incluye:

La enseñanza y la evaluación de técnicas de higiene bucal y la eliminación de condicionantes de biopelículas dentales (cálculo supragingival, obturaciones desbordantes) son las estrategias para controlar la infección supragingival y la gingivitis.

En el tratamiento de la gingivitis estos procedimientos son suficientes; en las periodontitis representa el primer paso y, a continuación, debe realizarse el raspaje y alisado radicular para con-

trolar la infección subgingival, que incluye la eliminación de la microbiota subgingival, las endotoxinas, el cálculo subgingival y el cemento infectado.

ANTIMICROBIANOS SOBRE LA BIOPELÍCULA SUPRAGINGIVAL Y SUBGINGIVAL

Para el control de la biopelícula supragingival se han incluido agentes antimicrobianos en dentífricos, geles, barnices, colutorios, chicles y soluciones para irrigación supragingival.

Mientras para el control de la biopelícula subgingival se han desarrollado varios vehículos y agentes antimicrobianos, tales como sistemas de irrigación con soluciones y geles, polímeros reabsorbibles, chips, fibras monolíticas, fibras de polipropileno y fibras de celulosa reabsorbible.

Resistencia en las biopelículas

Las bacterias que forman parte de las biopelículas tienen mayor resistencia frente a los antimicrobianos:

1. Los antimicrobianos llegan en menores concentraciones (concentraciones no efectivas frente a las bacterias) a las zonas profundas de la biopelícula.
2. Las bacterias, al ser atacadas con dosis subletales, tienen capacidad para desarrollar resistencia frente a los antimicrobianos (entrenamiento de resistencia con dosis subletales).
3. Al crecer en forma sésil, las bacterias activan genes que proporcionan mayor resistencia frente a los antimicrobianos en comparación con las formas planctónicas.
4. Las bacterias estarían protegidas por la matriz de exopolisacáridos frente a los antimicrobianos.

Antimicrobianos sobre la biopelícula supragingival

Clorhexidina

Clorhexidina, una bisbiguanida catiónica, es un agente antimicrobiano que ha sido empleado como antiséptico de amplio espectro en medicina desde 1954.

De los numerosos agentes antimicrobianos estudiados en diferentes ensayos clínicos, el que ha demostrado presentar beneficios clínicos y microbiológicos es el gluconato de clorhexidina.

Los colutorios con clorhexidina se utilizaron primero al 0,2% en Europa y, posteriormente en Estados Unidos, al 0,12%.

La clorhexidina actúa inhibiendo la biopelícula dental por los siguientes mecanismos:

1. Bloqueando los grupos ácidos libres (sulfatos, carboxilos y fosfatos) de las glucoproteínas salivales. Esto provoca la reducción de la adsorción de las proteínas sobre la superficie dental y, como consecuencia, evita o retarda la formación de película adquirida.
2. Impide la adhesión de las bacterias a la superficie de la película. La clorhexidina se une a las cargas negativas que se hallan sobre la superficie celular bacteriana y, de esta forma, dificulta el mecanismo de adsorción de las bacterias sobre la película adquirida.
3. Una vez que la película adquirida está depositada sobre la superficie dental, las bacterias se unen a ésta a través de iones Ca^{++} , formando con el tiempo la biopelícula dental; la clorhexidina tiene la capacidad de desplazar el Ca^{++} impidiendo la adherencia y, por lo tanto, evita la sucesión, la agregación y la coagregación que determina la biopelícula.

Indicaciones

Está recomendada como adyuvante en el tratamiento de gingivitis asociada a la biopelícula dental, enfermedades periodontales necrosantes (GUNA, PUN) en pacientes que no pueden efectuar correctamente la higiene bucal (pacientes con dificultad motora, pacientes con aparatología ortodóncica) con el mismo fin para el mantenimiento del tratamiento mismo, y previo y posterior a una cirugía periodontal.

Efectos colaterales

Tras su uso prolongado pueden presentarse:

- Coloraciones pardo-amarillentas sobre la superficie de dientes naturales, artificiales y restauraciones de composites, que parecen depender de la concentración del producto y de la susceptibilidad individual. Sin embargo, la coloración no penetra la superficie y, por lo tanto, puede eliminarse efectuando la profilaxis.
- Las pigmentaciones aumentan cuando se ingieren simultáneamente ciertos productos, como el café, té, vino tinto y también con el uso de tabaco.
- Alteraciones transitorias del gusto.
- Descamación de la mucosa bucal que desaparece al cesar el tratamiento.
- Aumento de cálculo supragingival que parece tener una composición distinta a la habitual; es más fácil su eliminación. Ha sido propuesto que durante su administración se aumente la frecuencia de higiene bucal.

- Son escasos los trabajos que relatan efectos sistémicos o reacciones alérgicas, incluso si se ingieren grandes cantidades, ya que no se absorbe a nivel gastrointestinal.

Interacciones

La molécula de clorhexidina (CHX) reacciona con agentes tensioactivos aniónicos, tales como fosfatos, sulfatos y cloruros presentes en cremas dentales, formando sales de baja solubilidad, reduciendo la actividad de la CHX. El lauril sulfato de sodio (LSS) es una molécula aniónica con alta afinidad por las moléculas de proteína y es incorporado en la composición de numerosos dentífricos. El cepillado con dentífricos y el posterior enjuague con clorhexidina son algo común en la práctica diaria.

La capacidad catiónica de la molécula de la clorhexidina implica que se inactive rápidamente en presencia de los agentes aniónicos, principalmente los que se encuentran en ciertos dentífricos, y debe existir un intervalo igual o mayor a 30 minutos entre ambas aplicaciones.

Formas de administración

a) Enjuagatorios:

El método más utilizado, como coadyuvante de la higiene oral, es sin duda el colutorio en concentración de 0,2% y 0,12%.

La clorhexidina se ha estudiado en un número de ensayos controlados. En estos estudios la reducción de la placa se situó entre el 16 y el 45%, y la reducción de la gingivitis entre el 27 y el 80%. La duración de un estudio fue de hasta 24 meses y no se detectó ninguna resistencia bacteriana a la clorhexidina.

Anderson ha demostrado la efectividad del gluconato de clorhexidina al 0,12% en colutorios junto con hábitos de higiene bucal en adolescentes con ortodoncia fija y su efecto se mantiene hasta los tres meses siguientes a su uso.

No es aconsejable enjuagarse con agua inmediatamente después de usarlo, ya que puede disminuir su sustentividad.

b) Irrigaciones supragingivales:

Los **irrigadores** con agua han sido recomendados como adyuvantes de la higiene bucal, en especial en aquellos portadores de tratamientos de ortodoncia o con dientes en mala posición. Su empleo debe acompañarse de una correcta higiene bucal.

Según Ciancio y Flemming, la irrigación supragingival con clorhexidina diluida en las proporciones 1:1 ó 2:1 de agua y solución enjuagatoria, respectivamente, logra el mismo efecto terapéutico que con enjuagatorios sin diluir.

Las pigmentaciones dentarias asociadas con clorhexidina fueron significativamente menores con las irrigaciones.

c) Pastas o geles con elevadas concentraciones

Una pasta dentífrica con 1% de clorhexidina ha demostrado la mayor actividad que una pasta placebo. También se ha observado reducción de la microbiota bucal.

El uso de gel de clorhexidina al 1% produce una reducción de la microbiota bucal mayor que la conseguida con el uso de enjuagues. Las concentraciones en pastas y geles al 1% obtienen acciones bactericidas.

d) Pastas dentífricas con bajas concentraciones:

Recientemente se han comercializado pastas dentífricas que contienen bajas concentraciones de digluconato de clorhexidina (0,004%) que ha mostrado tener efectos antimicrobianos sobre microorganismos asociados con gingivitis y periodontitis. Otra forma de presentación es un gel con 0,02% de clorhexidina y 2% de un agente de origen vegetal (extracto de *Rheum Palmatum*) con propiedades antiinflamatorias y formaldehído como antiséptico.

e) Barnices:

El barniz contiene tres componentes principales: un disolvente, un sistema de polímero y dos agentes antimicrobianos: clorhexidina 1% y timol 1%. Otros investigadores han propuesto la aplicación de un barniz de acetato de clorhexidina al 10%.

El timol, a pesar de no ser tan efectivo como la clorhexidina, tiene un efecto sinérgico con ésta. El barniz tiene actividad antimicrobiana frente a los grampositivos y gramnegativos.

Ventajas

- Alta efectividad en concentraciones de 1% clorhexidina y 1% de timol.
- Puede utilizarse en áreas particularmente susceptibles.
- No presenta los inconvenientes comúnmente asociados al uso de clorhexidina.

Barniz de clorhexidina en el tratamiento de enfermedades gingivoperiodontales

Valente y Bretz proponen la aplicación de barnices de clorhexidina al 10% que mejora significativamente la salud gingival de los adolescentes.

Clohexidina asociada a otros antimicrobianos

La clorhexidina se ha asociado con un gran número de antibacterianos para mejorar sus propiedades, ejemplo de ellos son: el xilitol, así como con el perborato sódico, el cloruro de cetilpiridinio.

Quirynen y colaboradores han mostrado que una combinación de clorhexidina al 0,12% sin alcohol a la que se añade cloruro de cetilpiridinio al 0,05% resulta igual de efectiva en el control de la formación de nueva biopelícula que clorhexidina con alcohol al 0,12% y que clorhexidina con alcohol al 0,2%, y es superior a clorhexidina 0,12% sin alcohol con fluoruro sódico al 0,05%.

Aceites esenciales

El más conocido es el Listerine®. Este enjuagatorio está compuesto por una combinación de aceites esenciales como: fenol, timol, eucaliptol y mentol con 21 a 26,9% de alcohol y con una presentación en diferentes sabores. Su mecanismo de acción se relaciona a la ruptura de la pared celular e inhibición de las enzimas bacterianas.

Estos compuestos han demostrado reducciones de la biopelícula dental entre 20 y 35% y entre 25 a 35% de las gingivitis. Su uso se remonta al siglo XIX.

Este producto debe usarse en un enjuague de 20 mL durante 60 segundos dos veces al día; se obtiene una reducción del índice de placa en un 12%; mayor cuando se utiliza durante 60 segundos en lugar de 30 segundos. Su efecto bactericida ha quedado probado recientemente al realizar un recuento de las bacterias vivas en saliva, luego de realizar un enjuague con una solución acuosa y a la media hora un enjuague de 30 segundos con Listerine® o con un control tras 24 horas de ausencia de higiene; se observó que el 78,7% de las bacterias estaban muertas tras realizar un enjuague con Listerine® y sólo un 27,9% con el control.

También se ha estudiado la utilización a largo plazo como producto de uso diario en el hogar.

Entre sus efectos adversos se destaca su fuerte sabor, la sensación de ardor y un ligero poder erosivo sobre el esmalte. Listerine® tiñe los dientes en combinación con una ingesta abundante de té u otra bebida coloreada.

Triclosán

El triclosán es un antiséptico, derivado fenólico no iónico, soluble en lípidos y que carece de los efectos de tinción de los agentes catiónicos que fue inicialmente incorporado en las formulaciones de los dentífricos; posteriormente fue incorporado en los enjuagues como agente antimicrobiano. La escasa sustentividad del triclosán en boca puede ser aumentada mediante su combinación con copolímeros de metoxietileno y ácido maleico.

Lindhe demostró que la acción antimicrobiana del triclosán se ve reforzada por el agregado de citrato de cinc y el copolímero éter-polivinil metílico del ácido maleico.

No se han observado efectos adversos importantes con esta sustancia. Su toxicidad es baja y es altamente liposoluble.

Yodopovidona

El yodo es uno de los antimicrobianos conocidos más antiguos; es efectivo contra bacterias, hongos y algunos virus.

En un estudio se compararon las propiedades antibacterianas de dos colutorios antisépticos bucales empleando un enjuague con clorhexidina al 0,2% o con yodopovidona al 0,1%; se observó una marcada reducción de los microorganismos anaerobios y aerobios en la saliva de ambos grupos, y la diferencia radicó en que el grupo de yodopovidona recobró los niveles bacterianos iniciales una hora después del enjuague, mientras que la clorhexidina mostraba reducción bacteriana en la saliva aun hasta siete horas más tarde.

Yodopovidona tiene un efecto anestésico tópico inmediatamente después de su aplicación para conseguir un desbridamiento inicial adecuado. La combinación de sus propiedades antimicrobianas y anestésicas lo hace el agente de elección para tratamiento agudo de periodontitis y gingivitis por HIV.

Otros antisépticos

Compuestos de amonio cuaternario

Los compuestos de amonio cuaternario, como el cloruro de cetilpiridinio (CPC), tienen una moderada actividad inhibitoria del biopelícula. Reducen el biopelícula en un 35%.

El cloruro de cetilpiridinio se usa en una amplia gama de colutorios bucales antisépticos, habitualmente en una concentración del 0,05%.

Roberts y Addy demostraron que la sustentividad del cloruro de cetilpiridinio es de aproximadamente tres horas y su eficacia puede ser incremen-

tada duplicando la frecuencia de enjuagues bucales a cuatro veces por día. Según otros autores esto aumenta los efectos colaterales: pigmentación dentaria, lo que podría afectar el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente e incrementar la sensación de quemazón en la mucosa bucal y lesiones ulcerosas.

Sanguinarina

La sanguinarina es un derivado alcaloide obtenido de una planta denominada *Sanguinaria canadensis*. Las propiedades antibacterianas de la sanguinarina se deben a su acción sobre las enzimas bacterianas intracelulares. Se la utiliza en forma de colutorio y dentífricos; su empleo prolongado provoca sensación de ardor.

Peróxidos

El peróxido de hidrógeno es un agente antiséptico bien conocido que resulta tóxico para muchas bacterias por sus propiedades oxigenantes. El factor crítico de la actividad del peróxido es el hecho de que este compuesto y otros productos pueden generar los radicales hidroxilo más tóxicos (véase cap. 11).

El agente oxidante evaluado para el control del biopelícula y la gingivitis es el agua oxigenada. Ésta produce liberación de oxígeno en contacto con tejidos y enzimas bacterianas.

El agua oxigenada ha sido indicada como tratamiento adyuvante en la gingivitis ulceronecrotizante aguda, debida a bacterias anaerobias.

Se utiliza agua oxigenada de 10 volúmenes diluida en partes iguales con agua en forma de buches o irrigaciones supragingivales cada 4 horas durante 48 horas.

Fluoruros

El uso de los fluoruros en periodoncia se relaciona con su capacidad de remineralizar el esmalte y el cemento más que por su efecto antibacteriano.

Los fluoruros deben aplicarse tópicamente después del tratamiento periodontal, como parte de las medidas preventivas integrales.

Contenido alcohólico y pH de los colutorios

Algunos colutorios contienen elevadas concentraciones de alcohol o poseen bajo pH, y pueden producir efectos adversos sobre la superficie radicular, restauraciones y mucosa.

La presencia de alcohol en proporción de hasta un 5% en las formulaciones de clorhexidina parecía aumentar la efectividad del producto, posiblemente

por la estabilización de la mezcla y la reducción del riesgo de contaminación del producto. Sin embargo, la formulación de la clorhexidina sin alcohol es igualmente efectiva en el control de la biopelícula dental y la reducción de la inflamación gingival.

Se han observado alteraciones sobre la mucosa en personas que han usado colutorios con 25% o más de alcohol. Se ha descrito la aparición de lesiones blancas en mucosa bucal asociadas al uso prolongado de colutorio con alcohol.

El etanol, tanto en los colutorios comercializados como mezclado con agua, puede inducir dolor bucal, según la concentración y la frecuencia. Niveles de etanol por debajo del 10% no suelen producir sensaciones dolorosas.

Una elevada concentración de etanol, un valor bajo de pH y otros ingredientes de los colutorios, como los edulcorantes y colorantes artificiales y los agentes saporíferos, constituyen irritantes potenciales.

Es recomendable que el odontólogo reconozca el contenido alcohólico y pH de los colutorios, especialmente cuando decide indicar un colutorio por largos períodos de tiempo. La tendencia es aplicar enjuagatorios libres de alcohol.

Antimicrobianos en el control de la infección subgingival

El éxito del tratamiento periodontal va a depender de la consecución de los siguientes objetivos microbiológicos:

- Desorganizar la biopelícula subgingival.
- Eliminar / reducir las bacterias que componen el biopelícula subgingival.
- Evitar la recolonización de patógenos periodontales y la formación de una nueva biopelícula subgingival.
- Permitir la colonización de bacterias compatibles con salud.

Esto ha sido tradicionalmente realizado a través de medios mecánicos.

Durante los últimos veinte años, se han introducido antimicrobianos locales como adyuvantes de la terapia mecánica con diferentes vehículos e incluyen sistemas de irrigación con soluciones y geles, polímeros reabsorbibles, chips, tubos de diálisis, fibras monolíticas de polipropileno y celulosa reabsorbible.

Aplicación subgingival con antisépticos

Las soluciones más empleadas han sido yodopovidona y clorhexidina.

La acción del yodo sobre diferentes especies de microorganismos ha resultado eficaz frente a bacterias grampositivas y gramnegativas; actúa como fungicida, virucida y muestra efectos esporicidas. Yodopovidona es un yodóforo que permite una liberación sostenida de yodo y ha reducido sus efectos colaterales. Se ha observado mayor disminución del sangrado al sondaje utilizando irrigaciones subgingivales con yodopovidona comparada con un placebo. Luego de 15 días de irrigación, se ha observado disminución de la inflamación gingival, reducción de células plasmáticas en sitios con periodontitis avanzada. Con irrigación al 0,2% se ha registrado una reducción de bacilos de "pigmento negro".

La aplicación de irrigaciones con yodo al 1% con desbridamiento ultrasónico ha mostrado reducir la profundidad al sondaje, la inflamación y la ganancia en el nivel clínico de inserción. Para mantenimiento se propone el tratamiento mecánico y aplicación subgingival de solución de yodopovidona.

Las ventajas del yodo solo o yodopovidona incluyen el bajo costo y la muy baja probabilidad de resistencia bacteriana.

Las desventajas incluyen hipersensibilidad (alergia al yodo) y la posibilidad de pigmentación de las piezas dentarias y obturaciones con el uso prolongado.

Se aconseja no administrar yodóforos en pacientes susceptibles a hipotiroidismo, en embarazadas y en mujeres que amamantan.

El uso de **clorhexidina** en distintas concentraciones y su conjunción con desbridamiento ultrasónico ha sido investigado y los resultados no son contundentes.

Se ha desarrollado un chip (Periochip®) biodegradable para la liberación controlada de clorhexidina directamente en la bolsa periodontal. En la actual formulación, el chip es biodegradable y libera clorhexidina dentro de la bolsa periodontal por un período de 7 a 10 días, manteniendo una



Fig. 20-18. Irrigación subgingival con tetraciclina.

concentración promedio de clorhexidina en el fluido gingival mayor de 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ durante 8 días. Con esa concentración el porcentaje promedio de inhibición bacteriana subgingival es del 99%. Debido a que es biodegradable, el chip de clorhexidina no necesita ser removido.

El chip de clorhexidina resultó efectivo como adyuvante del raspaje y alisado radicular en un estudio multicéntrico (Israel y Europa) y podría tener aplicación en sitios que no responden al tratamiento.

Aplicación tópica de antibióticos en el área subgingival

Las formas de aplicación subgingival han incluido irrigaciones, sistemas de liberación lenta, aplicación de geles biodegradables que contienen tetraciclina, minociclina, doxiciclina y metronidazol.

La **tetraciclina** se ha utilizado de diversas formas en la bolsa periodontal.

Las irrigaciones han utilizado tetraciclina en concentración de 100 mg por mililitro (fig. 20-18).

Se han registrado elevadas concentraciones de la droga en el exudado gingival cuando se aplican fibras de tetraciclina al 25% (Actisite®); las concentraciones son hasta 150 veces mayores a las obtenidas con la dosis sistémica (1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ vs. 4 a 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Esta elevada concentración aumenta la posibilidad de supresión bacteriana.

Se ha sugerido su aplicación en sitios que no responden al tratamiento periodontal convencional.

En pacientes con periodontitis crónica la aplicación de **fibras embebidas en tetraciclina combinadas con raspaje y alisado radicular** comparado con raspaje y alisado radicular solo no provee beneficios clínicos adicionales. En **pacientes en etapa de mantenimiento que no respondieron al raspaje y alisado radicular el sistema de liberación controlada a través de fibras embebidas con tetraciclina** adicionado al raspado y alisado radicular produce reducción de la profundidad al sondaje, ganancia de inserción clínica, reducción del sangrado al sondaje y de microorganismos periodontopáticos.

La colocación no es sencilla, requiere insertar la fibra en la bolsa periodontal después del raspaje y alisado radicular, y debe permanecer colocada durante 8-10 días. La fibra no es biodegradable, por lo que debe ser retirada pasado ese período.

Otras tetraciclinas

La **minociclina** es un derivado semisintético de la tetraciclina con espectro de acción similar. El

nombre con el que se comercializa es Dento-mycin® (Lederle) en Europa y Perioclina® en Japón.

Las microesferas de minociclina son polímeros biodegradables que contienen 2% del antimicrobiano y, una vez colocadas en el interior de la bolsa periodontal, las microesferas se rompen, liberan la droga en el interior de las bolsas periodontales, y se mantiene una concentración de 340 mg/mL en el fluido gingival por un período mínimo de 14 días.

Los resultados de los estudios sugieren que la aplicación local de minociclina sería efectiva como coadyuvante de la terapia periodontal, no quirúrgica, especialmente en los sitios/paciente que no mejoran luego del raspaje y alisado radicular.

En diferentes estudios se ha evidenciado que el tratamiento con raspaje y alisado radicular más la administración local de microesferas de minociclina resultó más eficaz que el raspaje y alisado radicular solo, para reducir la profundidad al sondaje en pacientes fumadores con periodontitis.

Otros estudios han observado la eficacia de los polímeros de **doxicilina** como antimicrobiano local.

Este polímero se presenta en una forma biodegradable que contiene 10% de doxicilina, 33% de poliláctico y 57% de N-metil-2 pirrolidona (Atridox®). Diversas investigaciones confirmaron que el polímero se deposita en las superficies radiculares y es liberado lentamente; pueden registrarse concentraciones superiores a 10 mg/ml en el fluido gingival.

La aplicación tópica de **metronidazol** con irrigadores eléctricos, tubos de diálisis y otros vehículos, en distintas concentraciones, también ha sido motivo de numerosos trabajos.

Los estudios sugieren que dos aplicaciones de un gel con metronidazol al 25%, con intervalos de una semana, resulta efectivo como coadyuvante del tratamiento convencional no quirúrgico.

El metronidazol no presenta sustantividad; la inducción de bacterias resistentes no es clara; y ha demostrado baja toxicidad en aplicación local.

En pacientes con periodontitis que no respondieron al tratamiento convencional, el gel resultó efectivo, aunque en menor medida que las fibras de tetraciclina.

Antimicrobianos sistémicos

En algunas oportunidades está indicado un tratamiento antimicrobiano sistémico asociado al tratamiento convencional, pero cuando es necesario resulta conveniente conocer la sensibilidad antimicrobiana de la microbiota periodontal.

Los antimicrobianos sistémicos más empleados son:

Tetraciclinas

La administración sistémica de tetraciclina ha mostrado ser útil en el tratamiento de periodontitis agresivas. En los pacientes que no responden a la terapia convencional se ha demostrado mejoría clínica y microbiológica con la administración de tetraciclina.

Sobre la microbiota subgingival se ha observado una mayor reducción de espiroquetas y bacilos gramnegativos cuando se combinó raspaje y alisado radicular con administración de tetraciclina.

En el tratamiento de la periodontitis agresiva las tetraciclinas han sido administradas durante 3 semanas en dosis de 250 a 500 mg cuatro veces por día.

Las tetraciclinas tienen, además de la actividad antibacteriana, otras propiedades que aumentan los beneficios de su utilización: acción antiinflamatoria, inhibición de la colagenasa y de la reabsorción del hueso, capacidad de promover la unión de los fibroblastos a la superficie del diente y capacidad de unirse a la superficie dentaria para ser liberadas lentamente durante algún tiempo.

En la periodontitis crónica moderada no se ha encontrado ningún beneficio con la utilización de las tetraciclinas.

La **minociclina** y la **doxicilina** ofrecen ventajas sobre la tetraciclina. La primera tiene una vida en suero más larga y una excreción urinaria menor, de tal modo que puede prescribirse en dosis más bajas y menos frecuentes, en cantidad de 200 mg/día, o sea, 100 mg cada 12 horas. Igualmente la doxicilina, que tiene una vida prolongada, se utiliza en dosis de 200 mg el primer día y luego dosis de 100 mg/día. Además, no son inhibidos en su absorción por los alimentos y tienen menos irritación gastrointestinal y menos efecto sobre la bacterias intestinales que las tetraciclinas.

La sustentividad de la minociclina en la superficie radicular y hueso es una propiedad importante de este antibiótico, como coadyuvante en el tratamiento periodontal. Una dosis diaria única de 100 mg durante 8 días permanece en concentraciones terapéuticas en el fluido gingival por 7 días siguientes al cese de la medicación.

Macrólidos y lincosaminas

Existe un gran número de antibióticos macrólidos.

La **clindamicina** es un antibiótico que logra buena concentración en el fluido gingival. Es efectivo frente a numerosos patógenos periodontales.

En pacientes con periodontitis agresiva con pérdida de inserción progresiva, tratados previamente con cirugía y tetraciclina, ha mostrado ser efectiva por un período de 24 meses asociada con raspaje y alisado radicular.

A los pacientes con sensibilidad microbiológicamente demostrada a la clindamicina, se les administró un comprimido diario durante 7 días combinado con raspaje y alisado radicular; la eficacia luego de 24 meses postratamiento fue ratificada.

Clindamicina sola o en combinación con ácido clavulánico ha sido considerada útil en el tratamiento de periodontitis agresiva. Se han prescrito 150 mg 3-4 veces al día durante 7-10 días. Entre los potenciales efectos adversos se destaca la colitis pseudomembranosa, aunque la frecuencia de ocurrencia es baja.

La **azitromicina** es un macrólido que ha demostrado ser eficaz contra algunos patógenos periodontales. La ventaja de esta droga es la comodidad de su ingesta y la seguridad del profesional en cuanto a que el paciente cumpla con las tomas y los horarios, ya que presenta una cómoda modalidad de prescripción (500 mg cada 24 hs por 3 a 5 días); una vida media útil cercana a 10 días, concentración adecuada en fluido gingival y saliva, y penetración en tejidos infectados.

Morello y Albera compararon el efecto clínico y microbiológico de la prescripción de azitromicina asociada al raspaje y alisado radicular en pacientes fumadores y no fumadores con diagnóstico de periodontitis crónica. Los resultados microbiológicos mostraron reducción significativa de *Prevotella intermedia* (Pi) en pacientes fumadores y no fumadores tratados con azitromicina. Los hallazgos clínicos sugieren que la administración de azitromicina tiene efectos suplementarios al raspaje y alisado radicular en pacientes con periodontitis crónica con riesgo incrementado por el hábito de fumar y no se observó efecto adicional en pacientes no fumadores.

En un estudio de doble ciego, se analizó el efecto de azitromicina, como coadyuvante en el tratamiento no quirúrgico de la periodontitis crónica, y se demostró que este antibiótico puede ser útil, particularmente donde están presentes bolsas profundas.

La azitromicina no debe ser administrada con:

- Antiácidos que contengan magnesio o aluminio.
- Comidas, ya que reducen el 50% de la biodisponibilidad.

La **espiramicina** es otro antibiótico perteneciente al grupo de los macrólidos. Su espectro antibacteriano incluye principalmente bacterias grampositivas y es excretado en elevadas concentraciones en saliva.

La sensibilidad de ciertas bacterias periodontopáticas a la espiramicina ha sido estudiada por varios autores que determinaron que las espiroque-

tas son generalmente sensibles. *A. actinomycetemcomitans*, *E. Corrodens*, *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium* son sensibles a elevadas concentraciones de esta droga.

La concentración de espiramicina en tejido gingival en humanos es muy elevada, entre 10 y 37 veces mayor que en plasma y la concentración en fluido gingival supera ocho veces la concentración plasmática.

Algunos investigadores han analizado el efecto de espiramicina sin raspaje y alisado radicular, y los efectos sobre los indicadores clínicos y microbiológicos (microscopía de campo oscuro, cultivo y PCR) y mostraron mejoría en los indicadores analizados.

Gómez y colaboradores analizaron el efecto combinado de espiramicina más raspaje y alisado radicular comparado con espiramicina sola y raspaje y alisado radicular solo y observaron, a corto plazo, mejoría en los indicadores clínicos y microbiológicos, mientras que a largo plazo (24 semanas) no observaron diferencias en la profundidad al sondaje entre el grupo espiramicina más raspaje y alisado radicular comparado con raspaje y alisado radicular solo, mientras que fue mayor el porcentaje de sitios sin espiroquetas en los grupos que habían recibido espiramicina.

Metronidazol

Es un fármaco bactericida (del grupo de los nitroimidazoles) que actúa al nivel de la síntesis de DNA (véase cap. 12). Este antimicrobiano inhibe los microorganismos anaerobios estrictos, como *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Selenomonas sputigena*, *Micromonas* y *Campylobacter*.

El metronidazol tiene buena penetración en el fluido gingival, se logran concentraciones comparables a las del suero, pero menores a los niveles de las tetraciclinas.

Ha demostrado ser efectivo como adyuvante del raspaje y alisado radicular en pacientes con bolsas periodontales profundas.

Ha sido utilizado con buenos resultados clínicos en el tratamiento de las enfermedades periodontales necrotizantes (gingivitis ulceronecrosante y periodontitis ulceronecrosante) y en periodontitis agresivas.

Los efectos adversos del metronidazol administrado por vía sistémica incluyen malestar gastrointestinal, gusto metálico, jaqueca y vértigo ocasional. El uso de este fármaco también produce intolerancia con el alcohol.

La dosis recomendada de metronidazol es de 250 a 500 mg tres veces por día durante 7 a 10 días.

La **ciprofloxacina** está indicada en infecciones con predominio de *A. actinomycetemcomitans* y en sobreinfecciones periodontales asociadas a bacilos entéricos, *Pseudomonas* y *Staphylococcus*.

Combinación de antibióticos

Se han utilizado combinación de fármacos, en algunas formas clínicas de enfermedad periodontal.

La asociación metronidazol y amoxicilina ha mostrado tener efectos sinérgicos in vitro sobre *A. actinomycetemcomitans*.

Otros investigadores han observado, en pacientes con periodontitis agresivas, que la combinación de 250 mg de metronidazol y 375 mg de amoxicilina administrada tres veces al día, durante 1 semana, fue efectiva para eliminar *A. actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*.

Ciprofloxacina y metronidazol han mostrado sinergismo frente a *A. actinomycetemcomitans* en infecciones periodontales asociadas con bacterias sobreinfectantes, en dosis de 500 mg de cada uno, dos veces al día durante 8 días; en el tratamiento de pacientes con periodontitis agresiva, se comprobó eliminación o inhibición de patógenos, mejoría en el nivel de inserción clínica, reducción en el sangrado y profundidad al sondaje a los 6 y 18 meses después del tratamiento.

CONCLUSIÓN

La prevención de las enfermedades periodontales está asociada con el control del biopelícula dental. En este contexto, los antimicrobianos podrían representar un complemento en el control mecánico de éste.

Resumen

Las bacterias se organizan en la cavidad oral en forma de las biopelículas.

Las bacterias en los biofilms presentan mayor resistencia frente a los antimicrobianos. Esta mayor resistencia se debe, fundamentalmente, a la acción protectora de la matriz y a la expresión de unos fenotipos más resistentes. Para que los antimicrobianos consigan mayor efecto debe realizarse una desorganización previa del biofilm por medios mecánicos (cepillado, elementos interdetales, control de condicionantes de las biopelículas y, en el caso de periodontitis, raspaje y alisado radicular, etc.).

El desarrollo de la microbiota subgingival depende de la presencia de la placa o biopelícula supragingival. Pero una vez establecido éste, varios estudios han mostrado que el control de la biopelícula supragingival no afecta significativamente a los microorganismos subgingivales en bolsas profundas.

Desafortunadamente, el control mecánico de la biopelícula por parte de la población es bastante imperfecto, tal como lo indican las estadísticas sobre hábitos de cepillado, uso de seda dental, así como los estudios sobre el tiempo medio dedicado a esta tarea que se sitúa por debajo del minuto.

Las técnicas de higiene bucal adquieren una función importante para evitar la recolonización de las bacterias subgingivales, ya que la biopelícula supragingival es responsable de la recolonización luego del tratamiento.

Los antimicrobianos locales pueden ser utilizados como adyuvantes del control mecánico y estar dirigidos a la biopelícula supragingival o subgingival.

La clorhexidina se mantiene como el antiséptico más potente, pero su uso debe ser reservado, en general, a terapias cortas (15-30 días) con el objetivo de evitar sus conocidos efectos secundarios más frecuentes: la tinción, así como el cambio en la sensación del gusto.

Los aceites esenciales, antisépticos aceptados junto con la clorhexidina por la *American Dental Association* (ADA), en estudios clínicos a largo plazo (seis meses) demuestran su moderada acción antibiopelícula y antiinflamatoria.

Sobre los beneficios de aplicar antimicrobianos locales como adyuvantes en el control de la biopelícula subgingival, tetraciclina y minociclina presentaron los resultados que alcanzaron mayor significación estadística. Los otros agentes y modos de aplicación produjeron resultados menos consistentes.

En algunas formas clínicas de enfermedad periodontal debería recurrirse a la administración de antimicrobianos sistémicos.

Para su administración deben considerarse:

- La composición de la microbiota subgingival.
- Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.
- La evaluación clínica del paciente y la determinación del nivel de riesgo individual.
- Los efectos colaterales de la droga.

La administración de antibióticos sistémicos como adyuvantes del tratamiento convencional resultó beneficiosa en aquellos pacientes con periodontitis agresiva y con periodontitis crónica con bolsas profundas, enfermedad progresiva o "activa", o con perfiles microbiológicos específicos.

Los mecanismos por los que las bacterias sésiles son más resistentes a los antimicrobianos que las planctónicas son muy numerosos. Además, estos mecanismos difieren no sólo entre distintas especies, sino ante distintos antimicrobianos y entre los distintos hábitats en los que se desarrolla la biopelícula. Uno de los más importantes mecanismos de resistencia parece ser la baja tasa de crecimiento que tienen las bacterias dentro de la biopelícula, que las hace menos susceptibles a muchos, aunque no a todos, los antibióticos. Además, la resistencia de las bacterias a los antibióticos está afectada por su estado nutricional, la tasa de crecimiento, la temperatura, el pH y la exposición previa a dosis subletales del agente antibiótico. Cualquier variación de estos parámetros puede modificar la respuesta de las bacterias de la biopelícula a los antibióticos.

Existe evidencia suficiente de que la remoción repetida de la placa supragingival afecta al biofilm subgingival de forma cuantitativa y cualitativa, a la vez que reduce los signos clínicos de inflamación. En un estudio de revisión se puso de manifiesto que los niveles de *T. forsythia* y *P. gingivalis* se reducen más significativamente cuando se asocian la terapia mecánica y la farmacológica. Este hecho indica que el enfoque terapéutico que debe llevarse a cabo contra la biopelícula tiene que estar compuesto por una terapéutica de remoción mecánica y, en los casos en los que la microbiota subgingival posea periodontopatógenos, fundamentalmente del cluster rojo y *A. actinomycetemcomitans* y bolsas profundas, una terapia antibiótica de apoyo estaría indicada.

Los parámetros clínicos, microbiológicos e inmunológicos pueden ayudar a identificar el riesgo individual para poder indicar los antimicrobianos más adecuadamente.

Preguntas de revisión

1. Mencione dos antimicrobianos locales e indique su mecanismo de acción y oportunidad de aplicación.
2. ¿Qué vehículos y formas de aplicación de antimicrobianos locales podrían utilizarse para el control de la biopelícula supragingival?
3. ¿Qué vehículos y formas de aplicación de antimicrobianos locales utilizaría para el control de la biopelícula subgingival?
4. ¿En qué situaciones clínicas emplearía antimicrobianos sistémicos en pacientes con enfermedad periodontal?
5. Mencione tres antimicrobianos sistémicos y a la derecha de ellos explique para qué tipo de enfermedad periodontal han sido indicados.
6. ¿Qué habría que hacer antes de indicar un antimicrobiano sistémico?

BIBLIOGRAFÍA

- Adams D, Addy M. Mouthrinses. *Adv Dent Res*, 1994; 8(2):291-301.
- Addy M, Wade WG, Jenkins S y Gooldfield S. Comparison of two commercially available chlorhexidine mouthrinses: I staining and antimicrobial effects in vitro. *Clin Prevent Dent*, 1989; 11:10-14.
- Addy M, Moran J, Newcombe R, Warren P. The comparative tea staining potencial of phenolic, chlorhexidine and antiadhesive mouthrinses. *J Clin Periodontol*, 1995; 22:923-928.
- Ainamo J, Etemadzadeh H. Prevention of plaque growth with chewing gum containing chlorhexidine acetate. *J Clin Periodontol*, 1987; 14:524-527.
- Anderson GB, Bowden J, Morrison EC, Caffesse RG. Clinical effects of chlorhexidine mouthwashes on patients undergoing orthodontic treatment. University of Texas-Houston, Department of Stomatology, Houston 77030-3402, USA. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 1997; 111(6):606-612.
- Arweiler NB, Netuschil L, Reich E. Alcohol-free mouthrinse solutions to reduce supragingival plaque regrowth and vitality. A controlled clinical study. *J Clin Periodontol*, 2001; 28:168-174.
- Axelsson P. Diagnosis and risk prediction of periodontal diseases Volume 3. Chicago: Ed. Quintessence, 2002.
- Baehni PC. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Diseases*, 2003; 9(suppl 1):23-9.
- Barkwoll P, Rölla G, Svendsen AK. Interaction between chlorhexidine diglucuronate and sodium laury sulfate *in vivo*. *J Clin Periodontol*, 1989; 16 (9):593-595.
- Barnett ML. The role of therapeutic antimicrobial mouthrinses in clinical practice: control of supragingival plaque and gingivitis. *J Am Dent Assoc*, 2003; 134:699-704.
- Bhatti SA, Walsh TF, Douglas CWL. Ethanol and pH levels of proprietary mouthrinses. *Community Dent Health*, 1994; 11:71-74.
- Bolanowski SJ, Gescheider GA, Sutton SVW. Relationship between oral pain and ethanol concentration in mouthrinses. *J Periodont Res*, 1995; 30:192-197.
- Bonesvoll P, Gjermo PA. Comparison between chlorhexidine and some quaternary ammonium compounds with regard to retention, salivary concentration and plaque inhibiting effect in the human mouth after mouthrinses. *Archives Oral Biology*, 1978; 23:289-294.
- Bonito AJ, Lohr KN, Lux L, et al. Effectiveness of antimicrobial adjuncts to scaling and root-planing therapy for periodontitis. Summary, evidence report/technology assessment Number 88. AHRQ Publication Number 04-E014-1, January 2004. Agency for Healthcare Research and Quality, Rockville, MD. <http://www.ahrq.gov/clinic>.
- Bouwsma OJ. The status, future and problems of oral antiseptics. *Current Opinion in Periodontology*, 1996; 3:78-84.
- Bretz WA, Valente MI, Djahjah C, do Valle EV, Weyant RJ, Nor JE. Chlorhexidine varnishes prevent gingivitis in adolescents. *ASDC J Dent Child*, 2000; 67(6):399-402.
- Brightman LJ, Terezhalmay GT, Greenwell H, Jacobs M, Enlow DH. The effects of a 0.12% chlorhexidine gluconate mouthrinse on orthodontic patients aged 11 through 17 with established gingivitis. *Am J Orthod Dentofac Orthop*, 1991; 100:324-329.
- Casals E, Manau C. Control profesional de placa. Efectividad en la prevención de enfermedades orales y evaluación económica. En Sanz M, editor. 1^{er} Workshop Ibérico. Control de placa e higiene bucodental. Madrid: Ergón, 2003; pp. 311-341.
- CDC. Fluoride Recommendations Work Group. Recommendations for using fluoride to prevent and control dental caries in the United States MMWR 50; 2001 August 17, 2001 / 50(RR14);1-42. www.cdc.gov/mmwr/preview/
- Charles CH, Pan PC, Sturdivant L, Vincent JW. In vivo antimicrobial activity of an essential oil-containing mouthrinse on interproximal plaque bacteria. *J Clin Dent*, 2000; 11(4):94-97.
- Charles CH, Sharma NC, Galustians HJ, Qaqish J, McGuire JA, Vincent JW. Comparative efficacy of an antiseptic mouthrinse and an antiplaque/antigingivitis dentifrice. A six-month clinical trial. *J Am Dent Assoc*, 2001; 132(5):670-675.
- Chiappe V. Espiramicina sistémica en periodontitis crónica: su efecto sobre patógenos periodontales. Tesis de doctorado, 2005.
- Ciancio S. Non surgical chemical periodontal therapy. *Periodontology* 2000, 1995; 8:75-86.
- Ciancio S. Local delivery of chlorhexidine. *Compendium*, 1999; 20(5):427-434.
- Ciancio S. Pharmacotherapy Chapter 15. In: Rose L, Genco R, Cohen W, Mealey B. *Periodontal medicine*. Ontario: Ed B. C. Decker Inc. Hamilton, 2000.
- Costerton W, Veeh R, Shirtliff M, Pasmore M, Post C, Ehrlich G. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest*, 2003; 112(10):1466-1477.
- Donlan, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Rev*, 2002; 15:167-93.
- Drisko CH. Non-surgical pocket therapy: pharmacotherapeutics. *Ann Periodontol, World Workshop in Periodontics*, 1996; Section 5 B 1(1):491-566.
- Drisko CH. Non-surgical periodontal therapy. *Periodontology* 2000, 2001; 25:77-88.
- Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc*, 1986; 112:863-869.
- Flemmig T, Newman MG, Doherty FM, Grossman E, Meckel AH, Bakdash MB. Supragingival irrigation with 0.06% chlorhexidine in naturally occurring gingivitis. I. 6 month clinical observations. *J Periodontol*, 1990; 61(2):112-117.
- Garret S. Local delivery of Doxycycline for the treatment of periodontitis. *Compendium*, 1999; 20(5):437-448.
- Garrett S, Johnson L, Drisko CH, Adams DF, Bandt C, Beiswanger B, Bogle G, Donly K, Hallmon WW, Hancock EB, Hanes P, Hawley CE, Kiger R, Killoy W, Mellonig JT, Polson A, Raab FJ, Ryder M, Stoller NH, Wang HL, Wolinsky LE, Evans GH, Harrold CQ, Arnold RM, Southard GL, et al. Two multi-center studies evaluating locally delivered Doxycycline hyclate, placebo control, oral hygiene, and scaling and root planing in the treatment of periodontitis. *J Periodontol*, 1999; 70:490-503.
- Genco RJ, Goldman HM, Cohen DW 1993. *Periodoncia*. México: Interamericana Mc Graw-Hill, 1993.
- Gómez M, Romanelli H, Sznajder N, Chiappe V, Bernat MI, Lavandeira H, Macchi R. Acción de la espiramicina en la periodontitis del adulto. *RAOA*, 2000; 86(6):574-582.
- Gordon J, Walker C, Houliaras C, Socransky SS. Efficacy of Clindamycin hydrochloride in refractory periodontitis: 24 months results. *J Periodontol*, 1990; 61:686-691.
- Greenstein G. The role of metronidazole in the treatment of periodontal diseases. *J Periodontol*, 1993; 64(1):1-15.
- Greenstein G, Polson A. The role of local drug delivery in the management of periodontal disease: a comprehensive review. *J Periodontol*, 1998; 69:507-520.
- Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 1997; 24(5):324-334.

- Haffajee AD, Arguello EI, Ximenez-Fyvie LA, Socransky SS. Controlling the plaque biofilm. *Int Dent J*, 2003; 53 suppl.:191-199.
- Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodontol*, 2003; 8:115-118.
- Hanes PJ, Purvis JP. Local anti-infective therapy: pharmacological agents. A systematic review. *Ann Periodontol*, 2003; 8:79-98.
- Heasman PA, Seymour RA. Pharmacological control of periodontal disease I antiplaque agents. *J Dent*, 1994; 22:323-335.
- Herrera D, Sanz M, Jepsen SJ, Needleman IG, Roldan S. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planning in periodontitis patients. *J Clin Periodontol*, 2002; (supplement 3) 29:136-159.
- Hoang T, Jorgensen MG, Keim, RG, Pattison AM, Slots J. Povidone-iodine as a periodontal pocket disinfectant. *J Periodont Res*, 2003; 38 (3):311-317.
- Huizinga ED, Ruben JL, Arend J. Chlorhexidine and thymol release from a varnish system. *J Biol Buccale*, 1991; 19(4):343-348.
- Jeffcoat MK, McGuire M, Newman MG. Evidence-based periodontal treatment. *J Am Dent Assoc*, 1997; 128(6):713-724.
- Jenkins S, Addy M, Newcombe R. The effects of a chlorhexidine toothpaste on the development of plaque, gingivitis and tooth staining. *J Clin Periodontol*, 1993a.; 20:59-62.
- Jenkins S, Addy M, Newcombe R. Evaluation of a mouthrinse containing chlorhexidine and fluoride as an adjunct to oral hygiene. *J Clin Periodontol*, 1993b; 20:20-25.
- Jenkins S, Addy M, Newcombe RG. A comparison of cetylpyridinium chloride, triclosan and chlorhexidine mouthrinse formulations for effects on plaque regrowth. *J Clin Periodontol*, 1994; 21:441-444.
- Jolkovosky DL, Waki M, Newman MG, Otomo-Corgel J, Madison M, Flemmig TF, Nachnani S, Nowzari H. Clinical and microbiological effects of subgingival and gingival margin irrigations with chlorhexidine gluconate. *J Periodontol*, 1990; 61:663-669.
- Jones AA, Kornman KS, Newbold DA, Manwell MA. Clinical and microbiological effects of controlled-released locally delivered minocycline in periodontitis. *J Periodontol*, 1994; 65:1058-1066.
- Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontology* 2000, 1997; 15:55-62.
- Jousimies-Somer H, Asikainen S, Suomala P, Summanen P. Activity of metronidazole and its hydroxy metabolite against clinical isolates of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol*, 1988; 3:32-34.
- Killooy WJ, Cobb CM. Controlled local delivery of tetracycline in the treatment of periodontitis. *Compend Contin Educ Dent*, 1992; XIII(12):1150-1159.
- Killooy WJ. Chemical treatment of periodontitis: Local delivery of antimicrobials. *Int Dent J*, 1998; 48 (suppl 1):305-315.
- Kornman KS. The role of supragingival plaque in prevention and treatment of periodontal disease. A review of current concepts. *J Periodont Res*, 1986; 21 (suppl):5-22.
- Kornman KS. Topical antimicrobial agents: individual drugs. In: Newman M, Kornman K. (eds) *Antibiotic/Antimicrobial use in dental practice*. Chicago: Quintessence Publishing Co Inc. 1990; pp 104-106.
- Kuyama K, Yamamoto H. A study of effects of mouthwash on the human oral mucosae: With special references to sites, sex differences and smoking. *J Nihon Univ Sch Dent*, 1997; 39(4):202-210.
- Leyes Borrajo JL, García VL, López CG, Rodríguez-Núñez I, García FM, Gallas TM. Efficacy of chlorhexidine mouthrinses with and without alcohol: a clinical study. *J Periodontol*, 2002; 73(3):317-321.
- Lindhe J. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. 3ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 2000.
- Listgarten MA, Loomer PM. Microbial identification in the management of periodontal diseases. A systematic review. *Ann Periodontol*, 2003; 8(1):182-191.
- Löe H, Schiott CR, Karring G, Harring T. Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General desing and clinical effects. *J Periodont Res*, 1976; 17:135-44.
- Löe H, Switzerland B. Oral hygiene in the prevention of caries and periodontal disease. *Int Dent J*, 2000; 50:129-139.
- Loesche WJ, Giordano JR, Hujoel P, Schwarcz J, Smith BA. Metronidazole in periodontitis: reduced needs for surgery. *J Clin Periodontol*, 1992; 19(2): 103-112.
- Loesche WJ, Schmidt E, Smith BA, Morrison EC, Caffesse R, Hujoel PP. Effects of Metronidazole on periodontal treatment needs. *J Periodontol*, 1991; 62(4):247-257.
- Mandel ID. Antimicrobial mouthrinses: overview and update. *J Am Dent Assoc*, 1994; 125:2S-10S.
- Marsh PD. Physiological approaches to the control of oral biofilms. *Adv Dent Res*, 1997; 11:176-185.
- Maynard JH, Jenkins S, Moran J, Addy M, Newcombe RG, Wade WG. A six month home usage trial of a 1% chlorhexidine toothpaste (II). Effects on the oral microflora. *J Clin Periodontol*, 1993; 20:207-211.
- Meurman JH, Suhonen J. Combination chemotherapy of dental plaque infections. *Proc Finn Dent Soc*, 1991; 87(4):549-554.
- Morello F, Ribotta E. Efecto de azitromicina más raspado y aliado radicular en pacientes con periodontitis crónica fumadores y no fumadores: evaluación clínica y microbiológica. *Rev Chil Periodon Oseoint*, 2005; 2(2):11-17.
- Newman M, Takei H, Carranza F. *Periodontología clínica*. 9ª ed. México: Mc Graw Hill Interamericana, 2003.
- Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology* 2000, 2004; 36:14-26.
- Palmer RM, Matthews JP, Wilson RF. Adjunctive systemic and locally delivered metronidazole in the treatment of periodontitis: a controlled clinical trial. *Br Dent J*, 1998; 184:548-552.
- Pan P, Barnett ML, Coelho J, Brogdon C, Finnegan MB. Determination of the in situ bactericidal activity of an essential oil mouthrinse using a vital stain method. *J Clin Periodontol*, 2000; 27(4):256-261.
- Paquette DW. Minocycline microspheres: a complementary medical-mechanical model for the treatment of chronic periodontitis. *Compend Contin Educ Dent*, 2002; (5 Suppl.) 23:15-21.
- Pavicic MP, van Winkelhoff AJ. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis: a 2 year evaluation. *J Clin Periodontol*, 1994; 27:107-112.
- Persson Rigmor E, Truebre Edmond L. Therapeutic effects of daily or weekly chlorhexidine rinsing on oral health on a geriatric population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1991; 72:184-191.
- Plaza JC, Gallardo F, Davila L, Rioseco M. Efectos de una terapia sistémica con azitromicina en el tratamiento de la periodontitis crónica. *Avances en Periodoncia Implantol*, 2003; 15(1):35-42. ISSN 1699-6585.
- Pontefract H, Hughis J, Kemp K, Yates R, Newcombe R, Addy M. The erosive effects of some mouthrinses on enamel. A study in situ. *J Clin Periodontol*, 2001; 28(4):319-324.
- Quirynen M, Avontrodt P, Peeters W, Pauwels M, Coucke W, van Steenberghe D. Effect of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on de novo plaque formation. *J Clin Periodontol*, 2001; 28(12):1127-1136.

MICROBIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES GINGIVOPERIODONTALES, DE LA PERIIMPLANTITIS, DE LOS CONDUCTOS RADICULARES Y DE LOS PROCESOS PERIRRADICULARES

3° PARTE

MICROBIOLOGÍA E IMPLANTES

Susana Piovano

Contenidos

Microbiota asociada con la salud periimplantaria. Mucositis y periimplantitis. Falla del implante. Toma de muestra para estudio microbiológico.

Objetivos

- Citar la microbiota asociada con salud periimplantaria.
- Identificar los microorganismos asociados con periimplantitis.
- Enumerar los pasos necesarios para la toma de muestras para estudio microbiológico en implantes antes de planificar la colocación de los implantes.

INTRODUCCIÓN

La colocación de implantes para reemplazar piezas dentarias perdidas fue iniciada en la década de los años sesenta, por un grupo de investigadores que describieron la oseointegración entre el titanio y el hueso. A partir de esa fecha se han investigado implantes de diferentes diseños y materiales.

El implante establece un contacto directo con el hueso y pueden colocarse implantes en pacientes total o parcialmente desdentados, con buena salud general.

Estudios longitudinales han mostrado que es posible mantener los implantes oseointegrados por largos períodos en condiciones de salud y funcionalidad con un buen control del biofilm dental.

En la última década, el origen bacteriano de la periimplantitis ha quedado demostrado en múltiples estudios en animales y en humanos, y se considera el factor más importante relacionado con la pérdida de oseointegración.

Muchos de los conceptos periodontales se han aplicado a los implantes y se ha desarrollado una amplia investigación para reconocer la biología de éstos en salud y enfermedad periimplantaria.

La biopelícula dental desempeña un papel importante en la salud y la enfermedad en relación con los implantes dentales.

La formación de biopelículas y su inadecuado control pueden iniciar un proceso inflamatorio de los tejidos periimplantarios marginales (mucositis) o llegar a afectar el tejido óseo de soporte (periimplantitis).

La respuesta del hospedador y otros factores, tanto locales como generales, también condicionan el paso de la salud a la enfermedad, en este caso la periimplantaria.

En los pacientes desdentados parciales, además de una buena salud general, las piezas dentarias remanentes no deben presentar enfermedad periodontal. Si el paciente tiene enfermedad periodontal, ésta deberá ser tratada antes de planificar la colocación de los implantes.

La microbiota subgingival alrededor de implantes estables se compone principalmente de cocos grampositivos y ausencia o escasas espiroquetas y bacilos móviles, semejante a la encontrada en dientes naturales periodontalmente sanos. En contraste, la microbiota de implantes con periimplantitis se compone especialmente de bacilos gramne-

gativos con una elevada frecuencia de los microorganismos encontrados en periodontitis. De esta forma, los implantes oseointegrados pueden ser colonizados por microorganismos relacionados con salud y enfermedad periodontal. Más aun, pacientes con historia de periodontitis presentan una alta frecuencia de microorganismos periodontopáticos, como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*. Adicionalmente, pueden aparecer microorganismos inusuales, como bacilos entéricos, pero su papel en la iniciación y la progresión de las patologías periimplantares es desconocido aún.

MICROBIOTA ASOCIADA CON LA SALUD PERIIMPLANTARIA

Al igual que en el diente natural, las bacterias se adhieren en primer término a la porción supragingival del implante y, posteriormente, colonizan el surco periimplantario. En algunos casos la adhesión bacteriana depende, aunque sólo inicialmente, del tipo de implante utilizado. Se ha demostrado que *Streptococcus sanguinis* se adhiere más al esmalte que al titanio, que *Streptococcus mitis* presenta una mayor adherencia al titanio y que *Actinomyces viscosus* presenta una menor capacidad adhesiva al titanio que al esmalte.

Dos días después de la colocación del pilar transepitelial, la biopelícula supragingival está formado fundamentalmente por cocos y bacilos grampositivos anaerobios facultativos. La biopelícula subgingival es el reflejo de la colonización supragingival, con las influencias ecológicas del surco gingival.

Con el tiempo se establece una biopelícula madura. Los microorganismos que pueden ser detectados incluyen *Streptococcus sanguinis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Actinomyces odontolyticus* y *Actinomyces naeslundii*.

En estado de salud periimplantaria no se han identificado *Porphyromonas gingivalis*. Con microscopio de campo oscuro y microscopía de contraste de fase se han observado pequeñas proporciones o ausencia de treponemas y bacilos móviles.

En implantes relativamente sanos con una profundidad al sondaje estable (3-5 mm durante uno o más años) se han identificado principalmente bacterias no móviles (cocos y bacilos). Las células cocoideas predominaban en esos sitios (64,2%).

Quirynen y Listgarten han comparado las bacterias encontradas alrededor de los implantes en pacientes parcial y totalmente desdentados, y han identificado una elevada proporción de cocos y

escasos bacilos móviles, y no han detectado espiroquetas (treponemas) en los pacientes totalmente desdentados. Estos autores han postulado que la presencia de dientes influye en la composición del biofilm alrededor los implantes (cuadro 20-5).

Actualmente, se acepta que los tejidos periimplantarios se comportan de manera similar a los periodontales frente a la agresión microbiana; por lo tanto, el estricto control de la microbiota en torno a los implantes, mediante medidas adecuadas de higiene y mantenimiento, es uno de los requisitos para el éxito en el largo plazo.

La microbiota de los sitios periimplante oseointegrados con salud son similares a la de los de sitios periodontales con salud (número elevado de cocos y bacilos grampositivos anaerobios facultativos).

MUCOSITIS Y PERIIMPLANTITIS

La infección microbiana puede originar dos tipos de manifestaciones clínicas: 1) una lesión que se limita a la inflamación de los tejidos blandos superficiales (mucositis periimplante) y 2) una lesión que involucra los tejidos blandos y la porción marginal de la interfase implante-hueso (periimplantitis). La figura 20-19 muestra la representación esquemática de sitios con salud periimplante y periimplantitis.

El cuadro clínico y radiográfico de la periimplantitis se caracteriza por:

- Inflamación de la mucosa periimplantaria.
- Secreción purulenta (en ocasiones).
- Sangrado al sondaje.
- Aumento de la profundidad de la bolsa periimplantaria.
- Dolor a la percusión o al apretar los dientes.
- Pérdida radiológica de la altura ósea periimplantaria.
- Movilidad progresiva del implante (en casos avanzados).

Cuando se produce un aumento de la inflamación en la encía periimplantaria, la proporción de cocos grampositivos anaerobios facultativos disminuye en la biopelícula subgingival.

El aumento en la proporción de treponemas ha sido asociado con inflamación gingival e incremento de la profundidad al sondaje.

Las proporciones elevadas de espiroquetas se asocian con periodontitis destructivas y periimplantitis. Los efectos de las enzimas y los productos metabólicos producidos en los tejidos periimplantarios requieren más estudios, aunque se ha

Cuadro 20-5. Indicadores clínicos morfotipos microbianos en implantes con salud periimplantaria. (Adaptado de Quirynen M y Listgarten)

REGISTROS CLÍNICOS

	IP*	SS**	PS***
Diente natural en pacientes parcialmente desdentados (n=35)	0,61 ± 0,15	0,26 ± 0,08	2,62 ± 0,07
Implantes de titanio en pacientes desdentados (n=11)	1,27 ± 0,35	0,64 ± 0,21	2,59 ± 0,21
Implantes de titanio en pacientes parcialmente desdentados (n=31)	0,58 ± 0,15	0,08 ± 0,04	3,04 ± 0,09

p < 0,05 (comparación entre Diente natural y Implantes de titanio en pacientes desdentados)
 p < 0,05 (comparación entre Implantes de titanio en pacientes desdentados y Implantes de titanio en pacientes parcialmente desdentados)
 p < 0,05 (comparación entre Diente natural y Implantes de titanio en pacientes parcialmente desdentados)

MORFOTIPOS MICROBIANOS

	Cocos	Bacilos móviles	Espiroquetas	Otros	Flora móvil
Diente natural en pacientes parcialmente desdentados (n=35)	56,1 ± 4,39	4,7 ± 1,22	3,8 ± 1,23	35,4 ± 3,23	8,5 ± 2,28
Implantes de titanio en pacientes desdentados (n=11)	71,3 ± 4,91	0,4 ± 0,27	0,0	28,4 ± 4,79	0,4 ± 0,27
Implantes de titanio en pacientes parcialmente desdentados (n=31)	68,6 ± 3,46	1,8 ± 0,57	1,6 ± 0,68	28 ± 2,80	3,4 ± 1,02

p < 0,05 (comparación entre Diente natural y Implantes de titanio en pacientes desdentados)
 p < 0,0001 (comparación entre Diente natural y Implantes de titanio en pacientes desdentados)
 p < 0,01 (comparación entre Diente natural y Implantes de titanio en pacientes desdentados)
 p < 0,05 (comparación entre Implantes de titanio en pacientes desdentados y Implantes de titanio en pacientes parcialmente desdentados)
 p < 0,0001 (comparación entre Diente natural y Implantes de titanio en pacientes parcialmente desdentados)
 p < 0,05 (comparación entre Implantes de titanio en pacientes desdentados y Implantes de titanio en pacientes parcialmente desdentados)

* IP: índice de placa.
 ** SS: sangrado con el sondaje.
 *** PS: profundidad del sondaje.

demostrado que las espiroquetas producen enzimas proteolíticas que disuelven la fibrina; las enzimas de tipo tripsina rompen la adhesión célula a célula; también se han documentado productos metabólicos citotóxicos para el tejido gingival.

P. gingivalis presenta factores de virulencia que han sido implicados con enfermedad periodontal y periimplantitis. La liberación de colagenasas, la capacidad de adhesión a las superficies y la inhibición local del sistema inmune pueden explicar parcialmente las lesiones periimplantarias observadas. Se encontraron con similar frecuencia en dientes adyacentes, indicando que pueden ser transmitidos a los implantes en pacientes parcialmente desdentados.

Los estudios longitudinales de la microbiota subgingival de los implantes en pacientes desdentados totales y parciales revelan que estos últimos presentan mayor número de microorganismos potencialmente periodontopatógenos.

La microbiota de sitios con periimplantitis en pacientes parcialmente desdentados es similar a sitios con periodontitis: aumento de bacilos gramnegativos anaerobios y espiroquetas.

Las bolsas periodontales son reservorio de patógenos que pueden infectar el área periimplante.

El desarrollo de una periimplantitis ha sido asociado con un aumento significativo en la proporción de determinados microorganismos, entre ellos *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Micromonas micros*, *Capnocytophaga* y *Campylobacter rectus*.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans, *Pre-*

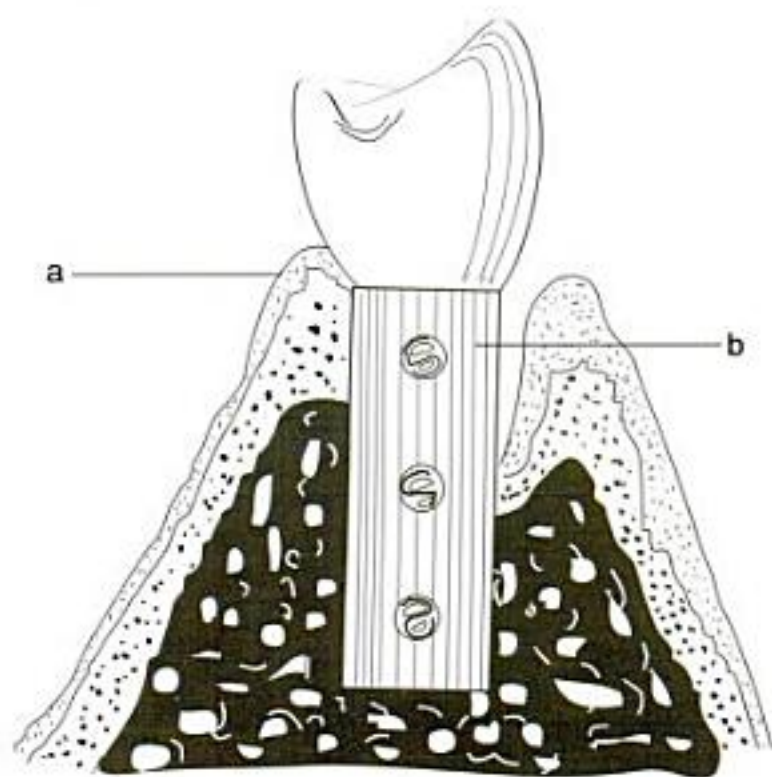


Fig. 20-19. Representación esquemática de los estados de salud y de infección periimplantaria. **a.** Salud periimplantaria. **b.** Periimplantitis.

Cuadro 20-6. Microbiota subgingival asociada a periimplantitis

Autor (N° de implantes)	Microorganismos (frecuencia y %)				
	Aa	Pg	Pi	Fn	Tf
Sbordone 1995 (13) Desdentados parciales	0/13 0	8/13 62	10/13 77	13/13 100	—
Leonhardt 1999 (29) Desdentados parciales	9/29 31	1/29 3	19/29 66	—	—
Leonhardt 1999 (8) Desdentados totales	1/8 12,5	2/8 25	3/8 37,5	—	—
Rosenberg 1991 (12) Desdentados parcial y total	3/12 25	7/12 58	12/12 100	8/12 67	—

Adaptado de Quirynen y col., 2002.

Prevotella intermedia y *Porphyromonas gingivalis*, implicados en la etiología de ciertas formas clínicas de periodontitis, están asociados con infecciones periimplantarias especialmente en pacientes parcialmente desdentados (cuadro 20-6).

En casos de periimplantitis avanzada se han observado espiroquetas, filamentos y leucocitos en el biofilm subgingival.

Por otra parte, se ha comprobado que con el uso prolongado de antibióticos o inmunosupresores por vía sistémica microorganismos menos frecuentes en la cavidad bucal pueden desempeñar un papel importante en estas infecciones. Así ocurre con *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, especies de *Staphylococcus* y otros.

El diagnóstico de periimplantitis se realiza

Cuadro 20-7. Morfotipos microbianos asociados con el fracaso de implantes por infección y por trauma (fondo oscuro)

Sitios (n)	Morfotipos (%)			
	Cocos (biopelícula subgingival)	Bacilos móviles	Bacilos no móviles	Espiroquetas
Implantes				
Sitios con infección	30,3 ± 4,3	21,5 ± 4,4	24 ± 4,1	24,2 ± 4,1
Sitios con trauma oclusal	52,8 ± 5,2	1,6 ± 1,8	43,9 ± 5,6	1,8 ± 1,7

Rosenberg et al, 1991.

clínica y radiográficamente. Sin embargo, deberían incluirse estudios microbiológicos para analizar la microbiota asociada.

Falla del implante

La falla puede deberse a una infección periimplante, a fuerzas oclusales excesivas, a una técnica quirúrgica incorrecta o a situaciones sistémicas.

Rosenberg ha postulado los indicadores para determinar la etiología de los implantes fracasados considerando la infección y trauma oclusal luego de la colocación de la prótesis.

Cuando la pérdida ósea se debe a causas infecciosas, se detecta la presencia de bacterias gramnegativas, espiroquetas y microorganismos móviles, supuración, aumento de profundidad y sangrado al sondaje, índice gingival y de placa, dolor a la masticación y presencia de tejido de granulación periimplantario. Sin embargo, cuando la causa es la sobrecarga biomecánica, se constata la ausencia inicial de microorganismos gramnegativos, el ensanchamiento radiológico del espacio periimplantario, la pérdida de altura ósea sin signos de supuración ni signos inflamatorios llamativos y una fibroencapsulación alrededor del implante, con escaso tejido de granulación.

El estudio de los morfotipos microbianos por microscopía de campo oscuro y los cultivos, así como los indicadores clínicos, revelan que la infección y el trauma oclusal responden de diferente manera. Con indicadores clínicos, que son los mismos que se utilizan en periodoncia, los sitios con infección se comportan de manera similar a las periodontitis. Al analizar los morfotipos microbianos se observó que los sitios con infección también se manifiestan de modo semejante a los sitios con periodontitis y presentan elevadas proporciones de espiroquetas y bacilos móviles; los sitios con trauma oclusal poscolocación de prótesis presentan proporciones relativas de morfotipos microbianos compatibles con salud periodontal (cuadro 20-7).

Toma de muestras para estudio microbiológico

La biopelícula subgingival es la adecuada para realizar los estudios microbiológicos. Se aísla la zona con rollos de algodón para evitar la contaminación de la muestra con microorganismos de la saliva.

Para tomar una muestra de la biopelícula subgingival primero hay que remover y descartar la placa supragingival con curetas de teflón para no modificar la superficie del implante (fig. 20-20).

El biofilm subgingival puede ser obtenido de diferentes formas, pero al parecer la más adecuada consiste en tomarla con conos de papel, igual que para los estudios periodontales. Se introducen 2 o 3 conos por sitio y después de transcurridos 10 a 15 segundos se retiran y sumergen en medio de transporte anaerobio; el sitio debe ser identificado. A continuación, si se va a efectuar el estudio de los morfotipos microbianos por microscopía de campo oscuro, se realiza la toma con una cureta de teflón introducida en el fondo del surco o la bolsa periimplantaria. Después de retirar se sumerge la cureta en solución fisiológica con gelatina al 1% y se homogeneiza. Se identifica al paciente y el sitio, y ambos tubos se envían al laboratorio.

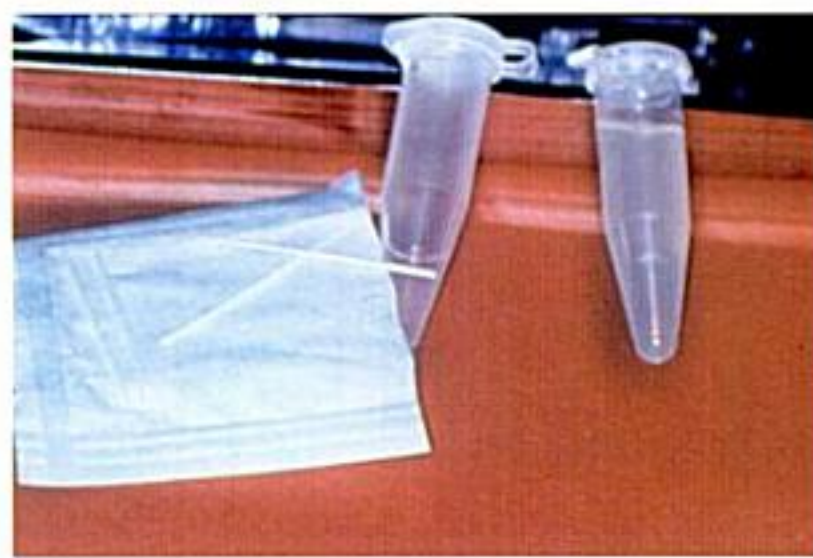


Fig. 20-20. Elementos para toma de muestra para estudio microbiológico. Conos de papel, medio de transporte y solución fisiológica más gelatina al 1%.

Resumen

El uso de implantes en la rehabilitación de pacientes parcial o totalmente desdentados es ampliamente aceptado, aunque existen fracasos. Las probabilidades de que los implantes se integren puede verse afectada, por ejemplo, por la presencia de bacterias intraorales y la reacción inflamatoria concomitante.

Las características de la superficie del implante pueden condicionar mayor adherencia de la biopelícula. Los estudios en animales, las observaciones transversales y longitudinales en el hombre, al igual que estudios de asociación, indican que la periimplantitis está caracterizada por microorganismos comparables a los de la periodontitis (elevada proporción de bacilos anaerobios gramnegativos, organismos móviles y espiroquetas). Para prevenir dicho cambio bacteriano, pueden considerarse las siguientes medidas: salud periodontal en la dentición remanente (para prevenir traslocación bacteriana), evitar la profundización de bolsas periimplantarias y el uso de un implante con una superficie relativamente lisa. Antes de colocar implantes dentales deberían considerarse factores de riesgo microbiano, del hospedador, del estilo de vida y del medio social. La microbiota, los factores genéticos y el hábito de fumar tabaco aumentan el riesgo de periimplantitis.

El diagnóstico microbiológico debería sistematizarse para tratar adecuadamente la periimplantitis.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué tres microorganismos están asociados con salud periimplantaria?
2. ¿Qué microbiota está asociada con periimplantitis?
3. ¿Qué pasos son necesarios para realizar la toma de muestras de placa subgingival para estudio microbiológico de sitios con implantes?

BIBLIOGRAFÍA

- Apse P, Ellen RP, Overall CM, Zarb GA. Microbiota and crevicular fluid collagenase activity in the osseointegrated dental implant sulcus: a comparison of sites in edentulous and partially edentulous patients. *J Periodont Res*, 1989; 24: 96-105.
- Mombelli A, Lang NP. Microbial aspects of implant dentistry. *Periodontology* 2000, 1994; 4:74-80.
- Mombelli A, Marxer M, Gaberthüel T, Gunder U, Lang NP. The microbiota of osseointegrated implants in patients with history of periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 1995; 22:124-130.
- Newman MG, Marinho VC. Assessing bacterial risk factors for periodontitis and peri-implantitis: using evidence to enhance outcomes. *Compend Contin Educ Dent*, 1994; XV(8):958-968.
- Quirynen M, Listgarten MA. The distribution of bacteria morphotypes around natural teeth and titanium implants ad modum Branemark. *Clin Oral Impl Res*, 1990; 1:8-12.
- Quirynen M, De Soete M, van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clin Oral Impl Res*, 2002; 13(1):1-19.
- Rams TA, Robert TW, Tatum H, Keyes P. The subgingival microbial flora associated with human dental implants. *J Prosthet Dent*, 1984; 51:529-534.
- Rosenberg ES, Torosian JP, Slots J. Microbial differences in 2 clinically distinct types of failure of osseointegrated implants. *Clin Oral Impl Res*, 1991; 2:135-244.
- Tonetti MS. Peri-implantitis: biological considerations. *J Parodontol Implantol Orale*, 1996; 15(3):269-284.
- Wolinsky L, Camargo P, Erard J, Newman M. A study of in vitro attachment of *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces viscosus* to saliva treated titanium implants. *Int J Oral Maxillofac*, 1989; 4:27-31.

INFECCIÓN DE LOS CONDUCTOS RADICULARES

La pulpa y la dentina forman un complejo funcional, el cual está protegido tanto por sustancias exógenas de la cavidad bucal como por estructuras dentarias (el esmalte y el cemento). En las últimas décadas ha habido grandes avances en el conocimiento de la etiología y la patogenia de las lesiones pulpares y perirradiculares.

Los microorganismos llegan a la cámara pulpar por diferentes vías: por fractura del tejido dentario, como resultado de la historia natural de la caries dental y por procedimientos odontológicos. Otras fuentes de infección son los túbulos de dentina expuesta en la superficie de la raíz debido a fisuras

en el cemento, caries radicular o enfermedad periodontal (fig. 20-21).

Los túbulos dentinarios expuestos por caries, las microfracturas coronarias y radiculares o las bolsas periodontales profundas son las vías más probables de infección endodóntica.

Cuando el complejo dentino-pulpar es infectado, los microorganismos invaden venciendo las defensas y causando la enfermedad pulpar, e infectando la cámara pulpar y el sistema de conductos radiculares.

Biopelículas

Los microorganismos en los conductos radiculares se organizan determinando una biopelícula.

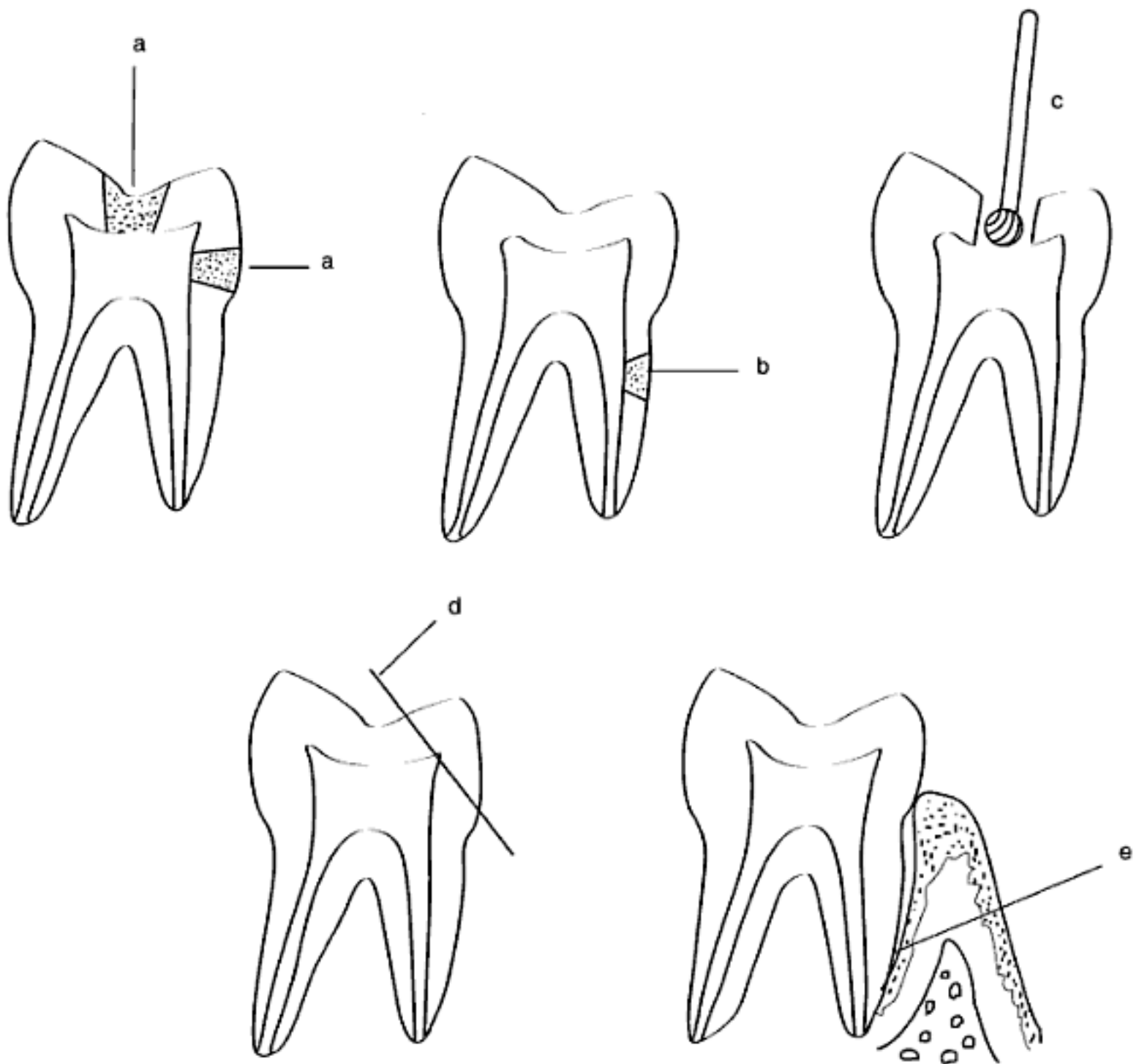


Fig. 20-21. Vías de acceso más frecuentes de los microorganismos a los conductos radiculares. **a.** Caries coronarias de puntos y fisuras y superficies libres. **b.** Caries radicular. **c.** Instrumentación odontológica. **d.** Fractura con exposición pulpar. **e.** Enfermedad periodontal.

Dichas agregaciones bacterianas han sido observadas sobre las paredes de los conductos infectados. Los biofilms se han podido reproducir en el interior de conductos de dientes extraídos con mezclas de bacterias anaerobias o cultivos puros de *Enterococcus faecalis*.

Las características de las biopelículas en los conductos radiculares no difiere de las biopelículas asociadas con caries dental y enfermedades gingivoperiodontales (véanse caps. 18, 19 y 20, 1ª parte).

En los conductos radiculares, los microorganismos prevalentes pueden evitar los efectos letales de la preparación químico-mecánica y de la medicación intraconductos por medio de la adherencia a las superficies en forma de biofilm.

Las señales del *quorum sensing* (véanse caps. 18 y 20, 1ª parte) son conocidas por estar involucradas en la regulación de varias propiedades microbianas, incluyendo la virulencia y la habilidad de formar biofilm. Numerosos microorganismos bucales aislados de los conductos radiculares; por ejemplo: *S. gordonii*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella intermedia* poseen la habilidad de comunicarse a través de *quorum sensing*.

En estos agregados microbianos, aun las bacterias relativamente más susceptibles son capaces de sobrevivir y pueden potencialmente participar en los fracasos endodónticos.

Ante la penetración en la pulpa los microorganismos se unen y se extienden a lo largo del conducto radicular. Luego de la formación de la biopelícula, el proceso infeccioso gana suficiente poder para causar la subsiguiente destrucción de los tejidos pulpares.

Con la progresión de la infección pulpar, los microorganismos y sus productos, que estaban inicialmente contenidos en el conducto, invaden la totalidad del sistema de conductos radiculares, incluyendo túbulos dentinarios, ramificaciones y cemento radicular; la resorción ósea y la infección extrarradicular pueden ser su consecuencia.

Factores nutricionales y físicos que influyen en los microorganismos asociados con infecciones endodónticas

Los factores nutricionales son fundamentales para el crecimiento microbiano dentro del espacio pulpar. En consecuencia, aquellos microorganismos que se establecen son los que pueden utilizar y compiten mejor por los factores de crecimiento disponible en la pulpa necrótica. Los componentes del tejido pulpar degenerado aportan una fuente nutricional importante en las fases iniciales de la colonización bacteriana.

Otro factor esencial lo constituye el exudado inflamatorio. Este exudado contiene elementos séricos y hemáticos. Si se presenta una comunicación entre el espacio pulpar y el medio bucal, la saliva aportará elementos que fomentarán el crecimiento bacteriano.

Un factor muy selectivo de la microbiota endodóntica es la baja disponibilidad de oxígeno en los conductos radiculares infectados, especialmente cuando no existe comunicación cámara pulpar-cavidad bucal, en particular en las porciones apicales, donde el bajo potencial de óxido-reducción del tejido necrótico favorece en un principio el crecimiento de bacterias anaerobias facultativas y, posteriormente, anaerobias estrictas.

Otro aspecto de relevancia dentro del microambiente bacteriano pulpar son las interacciones bacterianas. Las bacterias pueden contrarrestarse entre sí a través de metabolitos capaces de suprimir o eliminar otras especies.

Microbiota de los conductos radiculares

Las especies bacterianas dentro del sistema de conductos radiculares infectados pueden variar considerablemente. Algunos autores muestran el predominio de cocos y bacilos. Otros estudios exaltan la presencia de filamentos y espiroquetas.

La microbiota del conducto radicular de dientes no cariados con pulpa necrótica y enfermedad periapical está dominada (> 90%) por anaerobios obligados, por lo común pertenecientes a los géneros *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Micromonas* y *Anaerococcus*.

En los conductos radiculares necróticos se han identificado espiroquetas por medio de exámenes de campo oscuro y microscopio electrónico de transmisión.

La presencia de especies de los géneros *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus* y *Micromonas* se asocia con un aumento de síntomas clínicos, tales como dolor e hipersensibilidad a la compresión.

El sistema de conductos radiculares está en comunicación con los tejidos perirradiculares (ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar). Las enzimas, las toxinas y otros productos metabólicos difunden a través del tejido pulpar a los tejidos perirradiculares desencadenando la respuesta inflamatoria (periodontitis apical).

La enfermedad perirradicular inducida por microorganismos, por lo general, comienza como una inflamación de tipo crónico y se manifiesta histopatológicamente como un granuloma.

En la composición microbiana, apical y perirradicular de los dientes con caries coronarias hay

Cuadro 20-8. Especies bacterianas aisladas de conductos radiculares infectados

Cocos grampositivos	Bacilos grampositivos
<i>Streptococcus anginosus</i> <i>S. sanguinis</i> <i>S. mitis</i>	<i>Actinomyces israelii</i> <i>A. naeslundii</i>
	<i>Eubacterium alactolyticum</i> <i>E. lentum</i> <i>E. nodatum</i> <i>E. timidum</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	
<i>Micromonas micros</i> <i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Propionibacterium propionicum</i>
	<i>Lactobacillus</i>
Cocos gramnegativos	Bacilos gramnegativos
<i>Capnocytophaga ochracea</i> <i>C. sputigena</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>Veillonella parvula</i>	<i>Prevotella intermedia</i> <i>P. melaninogenica</i> <i>P. denticola</i> <i>P. buccae</i> <i>P. buccalis</i> <i>P. oralis</i>
<i>Campylobacter rectus</i> <i>C. curvus</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>P. endodontalis</i> <i>Bacteroides gracilis</i>

Adaptado de Sundqvist, 1992, 1994.

una cantidad mucho menor de anaerobios estrictos (< 70%).

En los conductos y el periápice de dientes tratados con endodoncia convencional, que muestran alteraciones radiográficas postratamiento, se han encontrado por medio de microscopía electrónica de transmisión, predominantemente filamentos grampositivos, bacilos y cocos.

Hay un renovado interés por los microorganismos extrarradiculares. Se han recuperado, entre otros, *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* de sitios extrarradiculares, en "lesiones inflamatorias periapicales asintomáticas, refractarias al tratamiento endodóntico" (cuadro 20-8 y fig. 20-9).

Determinantes bioquímicos de la virulencia de la microbiota endodóntica

En las etapas tempranas de la infección pulpar los microorganismos aerobios y anaerobios facultativos dominan la microbiota y la disminución progresiva en la concentración de oxígeno favorece el crecimiento de los anaerobios obligados. Como se mencionó, los productos finales del meta-

bolismo de algunas especies microbianas pueden formar parte de la cadena alimenticia de otras.

Los efectos biológicos de los lipopolisacáridos se deben, en principio, a su interacción con los macrófagos, que son activados para producir cierto número de mediadores moleculares, tales como las interleuquinas (IL). Como la microbiota endodóntica está dominada por microorganismos gramnegativos, es posible que puedan multiplicarse y morir en el conducto radicular apical y así liberan lipopolisacáridos que a través del foramen apical iniciarían una lesión perirradicular.

Algunos microorganismos producen enzimas, tales como colagenasas, hialuronidasas, fibrinolinas y proteasas que posibilitan la difusión en los tejidos.

Enterococcus faecalis es un microorganismo relacionado con infecciones endodónticas postratamiento, posee una amplia variedad de factores de virulencia, entre los que se incluyen: la agregación; producción extracelular de superóxido, gelatinasa y citolisinas tóxicas; capacidad para el intercambio de material genético y penetrar dentro de los túbulos dentinarios.

Candida albicans es una levadura que puede ser aislada del conducto radicular, en casos de periodontitis apical persistente, tanto en cultivos puros o en conjunto con bacterias, y al igual que *Enterococcus faecalis* posee una variedad de factores de virulencia que le confieren su capacidad de sobrevivir incluso en la región periapical. Tiene habilidad para producir proteasas, la capacidad de crecer y predominar en un ambiente bajo en

Cuadro 20-9. Principales bacterias asociadas a infecciones de pulpa necrótica

- *Porphyromonas gingivalis*, *P. endodontalis*
- *Prevotella oris*, *P. buccae*, *P. intermedia*, *P. melaninogenica*, *P. nigrescens*
- *Fusobacterium nucleatum*
- *Selenomonas sputigena*
- *Eubacterium lentum*
- *Micromonas micros*
- *Peptostreptococcus anaerobius*
- *Veillonella parvula*
- *Treponema denticola*
- *Streptococcus mitis*, *S. anginosus*, *S. oralis*, *S. intermedius*
- *Enterococcus faecalis*
- *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*
- *Campylobacter rectus*
- *Eikenella corrodens*
- *Capnocytophaga ochracea*
- *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*
- *Actinomyces odontolyticus*, *A. naeslundii*, *A. israelii*, *A. meyeri*



Apertura de conductos para drenaje



Absceso

Fig. 20-23. Apertura y drenaje de absceso perirradicular.

Cuando existe una infección extrarradicular, los monocitos y los macrófagos liberan mediadores, tales como las prostaglandinas, que activan a los osteoclastos. En poco tiempo la moderada resorción del hueso que circunda al periápice puede ser mayor y radiográficamente se observa un área radiolúcida. Los macrófagos activados pueden producir un variedad de mediadores que intensifican la respuesta vascular local, la resorción ósea osteoclástica y la degradación de las matrices extracelulares.

La periodontitis apical aguda incipiente puede remitir, intensificarse, formar abscesos, fistularse, difundir hacia el hueso (absceso alveolar) o volverse crónica.

La presencia continua de factores irritantes (microorganismos y sus productos) en el o los conductos radiculares apicales determina que una inflamación inicial aguda cambie gradualmente a una lesión encapsulada en tejido conectivo coláge-

no rico en macrófagos, linfocitos y células plasmáticas que se transformará en un granuloma.

Un granuloma puede permanecer asintomático durante un tiempo; sin embargo, las bacterias pueden avanzar hacia el tejido periapical y el granuloma crónico puede transformarse en agudo con manifestaciones clínicas. Como resultado, pueden encontrarse microorganismos intracelulares y extracelulares durante estos episodios agudos. Esta exacerbación puede ocasionar una rápida resorción ósea con imágenes radiográficas. La progresión del proceso de inflamación crónica y aguda es discontinua, con períodos de exacerbación luego de períodos de estabilidad o remisión.

ABSCEOS PERIRRADICULARES

Como consecuencia de la periodontitis apical, pueden originarse abscesos (fig. 20-22).

Cuadro 20-10. Patógenos asociados con diferentes lesiones endodónticas

Infecciones primarias

<i>Lesión perirradicular crónica*</i>	<i>Absceso perirradicular agudo**</i>	<i>Infecciones secundarias o persistentes***</i>	<i>Infecciones extrarradiculares****</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>Treponema</i>	<i>Treponema</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Prevotella</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	
<i>Porphyromonas</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Candida</i>	
<i>Fusobacterium</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Propionibacterium</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	
<i>Streptococcus</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>	
<i>Eubacterium</i>			
<i>Actinomyces</i>			
<i>Campylobacter</i>			

* Baumgartner, 1991. ** Siqueira y col., 2001. *** y **** Adaptado de Siqueira, 2002.



Fig. 20-24. Toma de material de conductos radiculares.

Si las reacciones de defensa son demasiado lentas o débiles, la infección evoluciona a través del hueso. El proceso afecta al hueso y avanza a través de los tejidos blandos, lo que da lugar a una celulitis. Finalmente, a partir de la infección ósea, de la celulitis, de la fascitis y del propio absceso, pueden producirse fístulas con distintas posibilidades de drenaje (fig. 20-23).

En los abscesos perirradiculares el 75% de los microorganismos aislados son anaerobios, como *Prevotella* y *Porphyromonas*. Puede existir una relación entre los síntomas clínicos y la prevalencia de *Prevotella* y *Porphyromonas*. Sin embargo, es posible que se produzcan abscesos sin estos microorganismos. Otras especies de *Prevotella* que se han identificado en los abscesos perirradiculares son *P. oralis*, *P. oris* y *P. buccae*.

En el 18% de los abscesos perirradiculares se ha aislado *Peptostreptococcus anaerobius*, *Micromonas micros*, *Anaerococcus prevotii* y *Finegoldia magna*.

Los *Streptococcus viridans* pueden identificarse a partir de muestras de abscesos perirradiculares; predominan *S. intermedius* y *S. anginosus*. También se han aislado especies de *Veillonella*, *Eubacterium*, *Actinomyces*, *Fusobacterium* y *Dialister*.

Según Siquiera las especies prevalentes serían: *Tannerella forsythia* (29,6% de los casos), *Porphyromonas gingivalis* (29,6%), *Streptococcus constellatus* (25,9%), *Prevotella intermedia* (22,2%), *Prevotella nigrescens* (22,2%), *Fusobacterium periodonticum* (18,5%), *Fusobacterium nucleatum* (18,5%) y *Eikenella corrodens* (18,5%).

Los *estreptococos viridans*, productores de polisacáridos extracelulares, *S. sanguinis* y especialmente *S. mutans* y *S. salivarius*, rara vez se reconocen a partir de muestras de abscesos perirradiculares (cuadro 20-10).

TOMA DE MUESTRA PARA EL ESTUDIO DE LA MICROBIOTA EN CONDUCTOS RADICULARES

Para poder analizar los microorganismos de la pulpa necrótica y del periápice se requiere la obtención de muestras, un medio de transporte anaeróbico y técnicas de cultivo para anaerobios estrictos.

El conducto radicular no debe haber sido tratado con agentes antimicrobianos antes de la toma y debe estar aislado para evitar una contaminación con saliva que conduciría a resultados erróneos.

El material se recoge con conos de papel estéril introducidos en el conducto radicular (fig. 20-24). Los conos se extraen y se sumergen en condiciones asépticas en un medio de transporte que se envía al laboratorio no más de dos horas después de haber recogido la muestra.

En el laboratorio se realizan siembras por duplicado en medios selectivos y no selectivos para microorganismos aerobios y anaerobios, y se incuban en ambas atmósferas.

La lectura permitirá evaluar la prevalencia de microorganismos y su posterior aislamiento e identificación.

El cultivo de conductos radiculares no se utiliza de manera sistemática y su ejecución está indicada en pacientes con un proceso refractario al tratamiento convencional y en enfermos bajo terapia inmunosupresora.

En este último caso la tipificación bacteriana sería útil para prevenir diseminaciones a distancia (véase cap. 22).

En los últimos años, se han implementado nuevas técnicas de identificación microbiana de base molecular como, por ejemplo, la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Estos métodos han demostrado una ventaja considerable para la identificación de microorganismos y ya han sido aplicados para analizar la microbiota endodóntica, donde se obtuvieron resultados interesantes, aunque no permite saber si los microorganismos están vivos.

Resumen

El reconocimiento de las causas que ocasionan lesiones pulpares y perirradiculares es necesario para realizar un adecuado diagnóstico y tratamiento.

Numerosos microorganismos que integran distintas biopelículas se han asociado con lesiones pulpares y perirradiculares.

Al igual que en las infecciones periodontales, las bacterias que forman parte de los biofilms en las infecciones pulpares y perirradiculares son más resistentes a los mecanismos de defensa del hospedador y menos susceptibles a los agentes antimicrobianos.

Las estrategias para tratar infecciones dentro de los conductos radiculares incluyen: el control mecánico para desorganizar el biofilm. La irrigación y medicación son adyuvantes del control mecánico.

Estudios recientes han demostrado, además, que en la biopelícula o biofilm las bacterias adquieren características más potentes de resistencia a antibióticos que en otros modos de crecimiento. El resultado de tales hallazgos puede contribuir a entender los mecanismos por los cuales diferentes microorganismos pueden resistir al tratamiento químico-mecánico incluido en la terapia de conductos radiculares.

Asimismo, deberán considerarse los factores de riesgo relacionados con el ambiente y el estilo de vida, porque pueden modificar la relación microbiota-hospedador en la pulpa y los tejidos periapicales.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué vías de acceso de los microorganismos a la cámara pulpar puede citar?
2. ¿Cuáles son los determinantes bioquímicos de la virulencia de los microorganismos asociados con infecciones pulpares y perirradiculares?
3. ¿Podría describir las características principales de los microorganismos asociados con infecciones endodónticas postratamiento?
4. ¿Qué microorganismos asociados con abscesos periapicales recuerda? Cite tres.
5. ¿Cómo se realiza la toma de muestra para el estudio de la microbiota en conductos radiculares?

Problema 20-1

Asiste al consultorio un paciente de 45 años, de género masculino, quien consulta porque se le mueve una muela. De acuerdo con la historia médica no se registra patologías sistémicas relevantes. Fuma más de 20 cigarrillos diarios. Tiene una frecuencia de consumo de sacarosa superior a 6 momentos.

La historia odontológica muestra que asistió al odontólogo hace 4 años y siempre para realizar tratamientos restauradores. No recuerda haber estado bajo un programa preventivo ni que le hayan aplicado fluoruros. Usa cepillo con cerdas duras, no utiliza elemento interdental y utiliza dentífricos fluorados. Nunca escuchó hablar de una técnica de higiene que remueva el biofilm.

El examen estomatológico no presenta particularidades.

BIBLIOGRAFÍA

- Ando N, Hoshino E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal, dentine. *Int Endod J*, 1990; 23(1):20-27.
- Baumgartner JC, Falkner WA. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endod*, 1991; 17(8):380-383.
- Baumgartner J, Khemaleelakul S, Xia T. Identification of spirochetes (treponemes) in endodontic infections. *J Endod*, 2003; 29(12):794-797.
- Clegg M, Vertucci F, Walker C, Belanger M, Britto L. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. *J Endod*, 2006; 32(5):434-437.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 1999; (5418):284:1318-1322.
- Dahle UR, Tronstad L, Olsen I. Observation of an unusually large spirochete in endodontic infection. *Oral Microbiol Immunol*, 1993; 8(4):251-253.
- Dahlen GG. Black pigmented gram negative anaerobes in periodontitis. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 1993; 6:181-192.
- Distel J, Hatton J, Gillespie J. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod*, 2002; 28(10):689-693.
- Egan MW, Spratt DA, Ng Y, Lam JM, Moles DR, Gulabivala K. Prevalence of Yeast in saliva and root Canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int Endod J*, 2002; 35(4):321-329.
- Fouad AF, Barry J, Caimano M, Clawson M, Zhu Q, Carver R, Hazlett K, Radolf JD. PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. *J Clin Microbiol*, 2002; 40:3223-3231.
- George S, Kishen A, Song K. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. *J Endod*, 2005; 31(12):867-872.
- Gomes BPF, Drucker DB, Lilley JD. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J*, 1994; 27(6):291-298.
- Gomes B, Pinheiro E, Souza E, Jacinto R, Zaia A, Ferraz C, Souza-Filho F. *Enterococcus faecalis* in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006; 102(2):247-253.
- Horiba N, Maekawa Y, Matsumoto T, Nakamura H. A study of the distribution of endotoxin in the dental wall of infected root canals. *J Endod*, 1990; 16(7):331-334.
- Iwu C, MacFarlane TW, McKenzie D, Stenhouse D. The microbiology of periapical granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod*, 1990; 69(4):502-505.
- Kalfas S, Figdor D, Sundqvist G. A new bacterial species associated with failed endodontic treatment: identification and description of *Actinomyces radicidentis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2001; 92(2):208-214.
- Leonardo M, Rossi M, Silva L, Ito I, Bonifacio K. EM Evaluation of bacterial biofilm and microorganism on the apical external root surface of human teeth. *J Endod*, 2002; 28(12):815-818.
- Love RM. *Enterococcus faecalis* - a mechanism for its role in endodontic failure. *Int. Endodon J*, 2001; 34(5):399-405.
- Love R, Jenkinson H. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2002; 13(2):171-183.
- Molven O, Olsen I, Kerekes K. Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. *Dent Traumatol*, 1991; 7(5):226-229.
- Moore WE. Microbiology of periodontal disease. *J Periodont Res*, 1987; 22(5):335-341.
- Nair R. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod*, 1987; 13(1):29-39.
- Nair PNR, Sjögren U, Kahnberg KE, Krey G, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic followup study. *J Endod*, 1990; 16:580-588.
- Nair PNR. Apical periodontitis. A dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontology* 2000, 1997; 13:121-148.
- Nair PNR. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J*, 2006; 39(4):249-281.
- Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. *J Endod*, 2002; 28(10):679-683.
- Pinheiro ET, Gomes BPF, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J*, 2003; 36(1):1-11.
- Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Teixeira F, Zaia A, Souza Filho F. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol*, 2003; 18(2):100-103.
- Sen B, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Dent Traumatol*, 1995; 11(1):6-9.
- Siqueira JF. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J*, 2001, 34(1):1-10.
- Siqueira JF Jr, Roças IN, Souto R, Uzeda M, Colombo A. Microbiological evaluation of acute periradicular abscesses by DNA-DNA hybridization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2001; 92(4):451-457.
- Siqueira JF Jr, Roças IN. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. *J Dent*, 2003; 31:333-339.
- Siqueira JF Jr, Roças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2004; 97:85-94.
- Sunde P, Olsen I, Debelian G, Tronstad L. Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. *J Endod*, 2002; 28(4):304-310.
- Sundqvist G, Reuterving CO. Isolation of *Actinomyces israelii* from periapical lesion. *J Endod*, 1980; 6(6):602-606.
- Sundqvist G, Johansson E, Sjögren U. Prevalence of black pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. *J Endod*, 1989; 15:13-19.
- Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immunol*, 1992; 7(5):257-262.
- Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod*, 1992; 18(9):427-430.
- Sundqvist G. Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1994; 78(4):522-530.
- Svensäter G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endod Topics*, 2004; 9:27-36.
- Tronstad L, Bennett F, Cervone F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol*, 1990; 6(2):73-77.
- Tronstad L, Titterud Sunde P. The evolving new understanding of endodontic infections. *Endod Topics*, 2003; 6(1):57-77.
- Waltimo T, Kuusinen M, Järvensivu A, Nyberg P, Väänänen A, Richardson M, Salo T, Tjäderhane L. Examination on *Candida spp.* in refractory periapical granulomas. *Int Endod J*, 2003; 36(9):643-647.
- Waltimo T, Haapasalo M, Zehnder M, Meyer J. Clinical aspects related to endodontic yeast infection. *Endodontic Topics*, 2004; 9(1):66-78.



Fig. 21-1. Aspecto clínico de una actinomicosis cervicofacial. (Gentileza de María Inés González.)

Los actinomicetales requieren medios enriquecidos, son de crecimiento lento y fermentan diversos hidratos de carbono con producción de ácidos pero no de gas.

Familia *Actinomycetaceae*: hábitat

En la familia *Actinomycetaceae*, se ubican los géneros *Actinomyces*, *Actinobaculum*, *Arcanobacterium* y *Mobiluncus*.

El género *Actinomyces* es el que tiene mayor interés como posible patógeno y en él se ubican varias especies, a saber, *A. israelii*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *A. odontolyticus*, y hasta cuarenta especies más. Estos microorganismos pueden **formar parte de la microbiota oral dominante**.

Otras especies de *Actinomyces* se encuentran en la cavidad bucal de distintos animales y una ha sido aislada del suelo.

En el ganado vacuno y otros animales, causan una enfermedad igual a la del hombre.

El género *Propionibacterium* contiene a *P. Propionicus* y *P. acne*, conforman un género diferente y pertenecen a otra familia, porque tienen la caracte-



Fig. 21-2. Morología de *Actinomyces* en cultivo ($\times 1.200$).

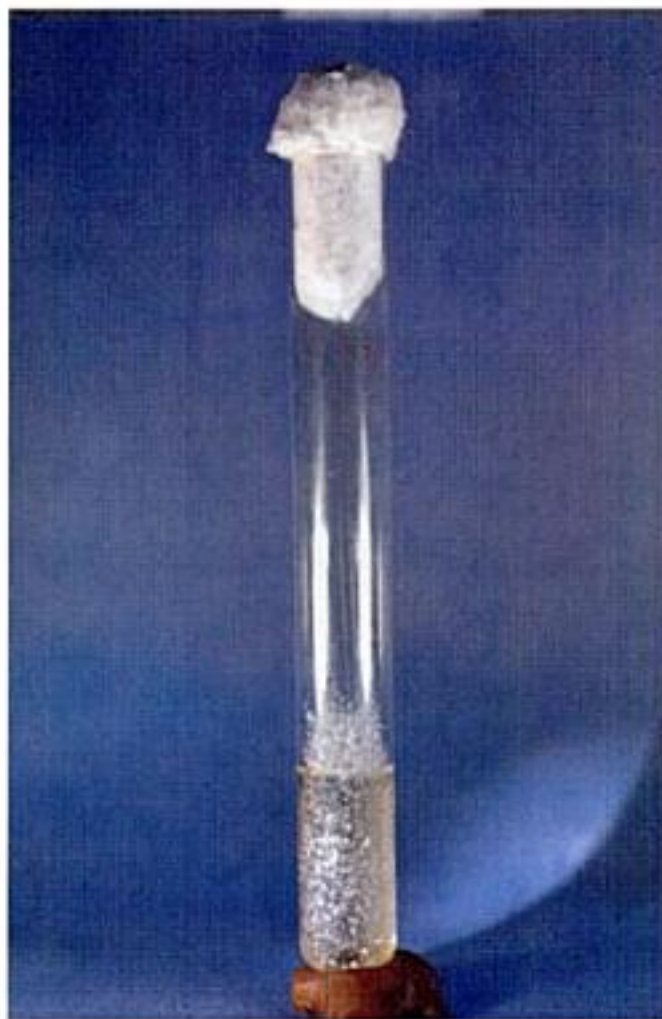


Fig. 21-3 Biofilm in vitro formada por *A. naeslundii* en medio basal con sacarosa.

terística de producir ácido propiónico como consecuencia del metabolismo de los hidratos de carbono. El *P. propionico* se lo encuentra como integrante del ecosistema oral. El *P. acne* es responsable de la alteración cutánea de ese nombre.

Como ya se ha dicho, el hábitat normal de todos estos gérmenes es la cavidad bucal, en especial las zonas con baja tensión de oxígeno, como por ejemplo el surco gingival, las bolsas periodontales, los cálculos dentales, las cavidades cariosas, los capuchones que recubren los terceros molares, las zonas periimplantarias y las criptas amigdalinas (véanse caps. 18 y 19). Estos microorganismos pueden formar biofilm o placa in vitro (fig. 21-3). También se los aísla del tubo digestivo y de la vagina, aunque se cree que el foco primario siempre es la boca.

Los identificados con mayor frecuencia en pacientes con manifestaciones clínicas de actinomicosis son, en orden de frecuencia decreciente, *A. israelii*, *A. odontolyticus*, *P. propionicus*, *A. viscosus*, *A. naeslundii* (cuadro 21-1).

Estos microorganismos se encuentran con cierta frecuencia junto con otros, también pertenecientes a la microbiota normal de la boca o de otras regiones donde asiente la enfermedad. Se dice que esta enfermedad puede ser considerada una **infección mixta o asociada**, en la que las bacterias actuarían sinérgicamente.

manera excepcional por vía sanguínea. En general, no hay compromiso ganglionar, a pesar de que se han descrito casos de enfermedad en esos órganos. Cuando se localiza en el ángulo mandibular, el trismus es un síntoma temprano. Si no se establece el diagnóstico correcto cuanto antes, pueden quedar cicatrices muy visibles.

Cuando el enfermo ha sido medicado con antibióticos, en la creencia de tratarse de un absceso peridentario común, el cuadro clínico no es típico y se dificulta su diagnóstico (caso clínico).

La patología que sólo afecta la región intraoral puede asentar en la encía, en la lengua, en las amígdalas, en tejidos periimplantarios y en abscesos periodontales. Además, se ha demostrado la participación de *Actinomyces* en caries, abscesos periapicales (véanse caps. 18 y 19) y en las gingivitis. Como se ha demostrado que en ciertas condiciones in vitro el citoplasma se calcifica, puede formar cálculo dental e incluso salival (fig. 21-4).

Las formas torácica y abdominal se deben a la inhalación o a la deglución, respectivamente, de los gérmenes de la boca, junto con algún trauma que favorezca su instalación. En el abdomen la instalación de la enfermedad se ve favorecida por la apendicitis, la diverticulitis, las úlceras o cualquier otro trauma.

En la región pelviana la enfermedad es consecuencia del trauma que producen los dispositivos intrauterinos (DIU). En la palpación estas últimas formas clínicas se confunden con lesiones tumorales malignas. Sólo la aparición de las fístulas y el estudio microbiológico permiten establecer el diagnóstico correcto.

La actinomicosis que compromete algunos de estos sitios, en especial las zonas cervicofaciales y



Fig. 21-4. MET de *Actinomyces israelii* sembrado en un medio con saliva estéril. Las zonas citoplasmáticas electrodensas corresponden a calcificaciones intracelulares ($\times 25.000$).

torácicas, puede diseminarse hacia el sistema nervioso central y originar abscesos cerebrales o cerebelosos. No obstante, hay comunicaciones de casos primarios en esta región (cuadro 21-3).

Otra forma de diseminación puede ser por vía hemática.

FACTORES DE PATOGENICIDAD

Los microorganismos del género *Actinomyces* no producen toxinas y elaboran pocas enzimas, por lo que se supone que su acción patógena se debe, en primer término, a su capacidad de adherirse a la superficie dentaria a través de las fibrillas extracelulares y a la producción de una matriz cuando hay hidratos de carbono en el medio. Se forma un **homopolímero** que es capaz de activar el complemento. También se ha comprobado que existen **fenómenos de coagregación bacteriana**.

Estos agregados serían más difíciles de fagocitar. Estos microorganismos poseen escasa actividad proteolítica, **producen ácidos**. En trabajos realizados in vitro se ha demostrado que tienen **actividad osteoclástica**. Como sólo se patogenizan como consecuencia de un traumatismo, se sospecha que los tejidos necrosados les brindan las condiciones óptimas de desarrollo y allí actuarían compitiendo por los nutrientes con las células del hospedador (cuadro 21-4).

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Los actinomicetales generan poca respuesta inmune, lo que hace pensar que son poco antigénicos. Se realizan pruebas de inmunodifusión en gel de agar para diferenciar especies.

La inmunofluorescencia, que ha brindado excelentes resultados, ha permitido separar especies y serotipos. Esta prueba se basa en los antígenos, fundamentalmente polisacáridicos, de las paredes celulares.

ANATOMÍA PATOLÓGICA

Lo más típico es la formación de granos. En el examen histopatológico se comprueba que éstos consisten en verdaderas microcolonias. El centro del grano se ve violáceo tanto con técnicas de Gram para tejidos como con la tinción de hematoxilina-eosina. Con mayor aumento se aprecia que en esa zona hay delicados filamentos o elementos bacilares dispuestos en forma radiada, lo que le valió el nombre al microorganismo (actino: rayos).

Problema 21-1

Paciente de sexo masculino de 26 años, comerciante del rubro gastronómico, residente de Carmen de Patagones. Hace dos meses le hicieron una extracción de un tercer molar en malposición. Inmediatamente sufre una infección, por lo que se lo medica con distintos antibióticos. Pero aparece un flemón que recidiva con facilidad, durante 1 mes. Al cabo de ese período es internado, medicado, pero surge una fístula en el maxilar inferior por la que mana pus amarillento. El paciente se agrava, pues el flemón se extiende hacia la clavícula y presenta trismus. Sale pus maloliente, se le prescribe metronidazol, gentamicina y cefaloridina por tres días. Mejora, pero sigue supurando. Lo envían a la Ciudad de Buenos Aires. Persiste el trismus y edema duro en la zona del maxilar inferior.

Se obtiene una muestra por abordaje externo; el material es sero-sanguinolento algo escaso; se intenta hacer diagnóstico de laboratorio.

En la preparación de Gram se ven escasos filamentos grampositivos, compatibles con *Actinomyces*, y algunos bacilos gramnegativos; las demás técnicas de coloración son negativas para otros microorganismos. Los cultivos en agar blando y tioglicolato son negativos. En una segunda entrevista el enfermo informa que es asmático y que hace nebulizaciones con cortisona. Se hace la **prueba terapéutica** y se lo medica como si se hubiera confirmado el diagnóstico de actinomicosis por medio de cultivos. Se indica Amoxidal® 4 g diarios y Flagyl® 1 g por día durante 15 días. Al cabo de ese plazo el enfermo regresa casi curado; no obstante, se indica reducir las dosis a la mitad durante 20 días, período en que el enfermo vuelve a su lugar de origen curado.

Preguntas:

1. ¿De qué enfermedad podría tratarse?
2. La edad, sexo u ocupación, ¿pudieron tener alguna importancia?
3. ¿Cuál fue la causa predisponente y la desencadenante de esta patología?
4. ¿Es una infección por un solo microorganismo?
5. ¿Por qué no mejoró con los tratamientos antibióticos que le instauraron en un comienzo?
6. ¿Por qué no se obtuvieron cultivos positivos?
7. ¿Qué otra causa contribuyó a agravar su enfermedad?
8. ¿Podría haberse evitado esta patología?

BIBLIOGRAFÍA

- Arenas Guzmán R. Capítulo 24: Actinomicosis. En: Micología médica ilustrada. 2ª ed., México: Editorial McGraw Hill, 2003; pp. 237-244.
- Negróni M. Capítulo 20: Familia *Actinomycetaceae* y actinomicosis. En: Microbiología estomatológica. Fundamentos y

guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 301-308.

- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Appendix A: Classification of bacteria according to Bergey's Manual. In: Microbiology. An introduction. 8ª ed., San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2004; pp. 813-25.

COMPLICACIONES SISTÉMICAS POR LA MICROBIOTA BUCAL

Marta Negroni

Contenidos

Remoción o eliminación de la microbiota bucal. Destino de la microbiota eliminada. Vías de propagación. Tipos de complicaciones posibles. Características de las infecciones por anaerobios. Diagnóstico. Nociones de tratamiento. Endocarditis infecciosa. Causas predisponentes. Agentes etiológicos. Aspectos clínicos. Diagnóstico de laboratorio. Tratamiento. Prevención.

Objetivos

- Mencionar causas espontáneas e inducidas de eliminación de la microbiota bucal.
- Citar el destino de la microbiota eliminada.
- Detallar las vías de propagación.
- Enumerar las posibles complicaciones debidas a la microbiota bucal.
- Definir las características de las complicaciones por anaerobios.
- Describir las características de la endocarditis infecciosa.
- Citar las causas que predisponen a esta patología.
- Enumerar los cuatro pilares de la prevención de la endocarditis infecciosa.

INTRODUCCIÓN

Como se vio en otros capítulos (17, 18, 19 y 20), la cavidad bucal posee microbiota indígena y accesoria. También se ha mencionado que esa comunidad microbiana sufre recambios y tiene características propias. Aquí se recordará por qué mecanismos se elimina parte de esos microorganismos y, en especial, qué destino puede tener, además de las posibles complicaciones que podrían ocasionar.

REMOCIÓN O ELIMINACIÓN DE LA MICROBIOTA BUCAL

La eliminación de esa microbiota de sus micronichos es consecuencia de causas que podríamos llamar espontáneas o naturales y de otro mecanismo que sería de tipo inducido. Puede agregarse que también está relacionada con características del microorganismo y del hospedante.

La **eliminación espontánea** puede deberse a:

1. La falta de mecanismos de adherencia de las bacterias.
2. La ocupación de los receptores celulares por otros microorganismos.
3. Mecanismos de tipo inmunológico naturales o inespecíficos (IgA).
4. La constante descamación celular.
5. La acción antagonista de otras bacterias u hongos.
6. La acción de barrido y factores antimicrobianos de la saliva.
7. La autólisis que realiza la musculatura.
8. La fricción y el arrastre de alimentos consistentes.

La **eliminación inducida** se debe a:

1. La modificación de los nichos ecológicos por extracciones, restauraciones, selladores, movimientos ortodóncicos, etcétera.

2. La práctica adecuada de técnicas de higiene oral.
3. Terapias de raspaje, curetaje y limpieza profesional.
4. Mecanismos inmunológicos de tipo adaptativo o específico.
5. Acciones medicamentosas de antisépticos o antimicrobianos específicos.

Destino de la microbiota eliminada

La gran mayoría de los microorganismos que no se adhieren son **deglutidos**. Otros, especialmente en las personas con deglución atípica, son **inhalados**.

En los individuos con hábitos de onicofagia (morderse las uñas) parte de esa biota se traspassa a **los dedos**. Si el hábito consiste en morderse los dedos y luego restregarse los ojos, la consecuencia será la traslocación de esas bacterias a la **conjuntiva**. Otra posibilidad es la **expulsión**, con micropartículas o gotitas de Pflügge que pasan al ambiente.

Algunos microorganismos pueden ser **lisados** en la misma cavidad bucal. No obstante, se ha demostrado por medio de muestras obtenidas de la sangre que durante diversos procedimientos hay bacterias que tienen la capacidad de **invadir el torrente sanguíneo** (bacteriemias, cap. 17), en especial durante o después de cirugías periodontales, extracciones, irrigaciones de bolsas periodontales, por mascar gomas u otros hábitos, luego de un cepillado vigoroso, etcétera.

VÍAS DE PROPAGACIÓN

Aparte del destino normal de estos agentes infecciosos, cuando los microorganismos se encuentran presentes en número suficiente y hay alguna causa orgánica que los favorezca o algún trauma, es posible que alcancen otras zonas, que en condiciones normales son estériles. En la mayor parte de los casos la diseminación se produce **por continuidad**.

Otros procesos son resultado de la diseminación **por vía sanguínea**.

Ciertos hábitos conducen a la **autoinoculación externa**.

La **aspiración** es otro mecanismo de propagación. Cuando la **deglución** se acompaña de un trauma, puede ser una vía de diseminación, aunque más excepcional, puesto que habitualmente las bacterias deglutidas son atacadas por los ácidos gástricos.

En el caso del mecanismo de **contacto directo**, a través de las partículas de Pflügge, si éstas con-

tienen una carga muy importante de microorganismos y hay otro hospedador muy cerca, es posible que esos gérmenes encuentren albergue en él.

TIPOS DE COMPLICACIONES POSIBLES

Por continuidad, especialmente a partir de procesos periapicales y periodontales, puede producirse estomatitis, sinusitis, flemones, celulitis, osteomielitis, actinomicosis cervicofacial (cap. 21), botriomicoma o actinofitosis (cap. 23-2) y abscesos cerebrales. Salvo la actinomicosis, los demás procesos pueden tener una etiología muy variada, con predominio de microorganismos anaerobios.

La autora diagnosticó una severa estomatitis de Vincent (por simbiosis fusoespiroquetal) en el carrillo izquierdo de un paciente (fig. 22-1) con una gran zona de necrosis, compromiso ganglionar y mal estado general; este cuadro había sido desencadenado por el estado gingivoperiodontal severo asociado con un agudo cuadro de estrés.

Una complicación, algo frecuente, es la que puede producirse como consecuencia de la acumulación de biofilm dental polimicrobiano sobre las superficies internas de las prótesis removibles. Estas lesiones son clínicamente indistinguibles de las estomatitis subplaca debidas a *Candida ssp.* Sin embargo, su tratamiento no requiere antimicóticos, sólo se mejora con técnicas adecuadas de higiene dirigidas a los aparatos de rehabilitación. Esta patología debe designarse como **estomatitis inespecífica subplaca**.

Ciertos casos de endocarditis infecciosa se originan en la zona bucal y por diseminación hematológica (ver más adelante).

Algunas paroniquias (inflamación de los repliegues que bordean las uñas) son resultado del mordisqueo de las uñas; la etiología es variada, con predominio de bacterias piógenas.

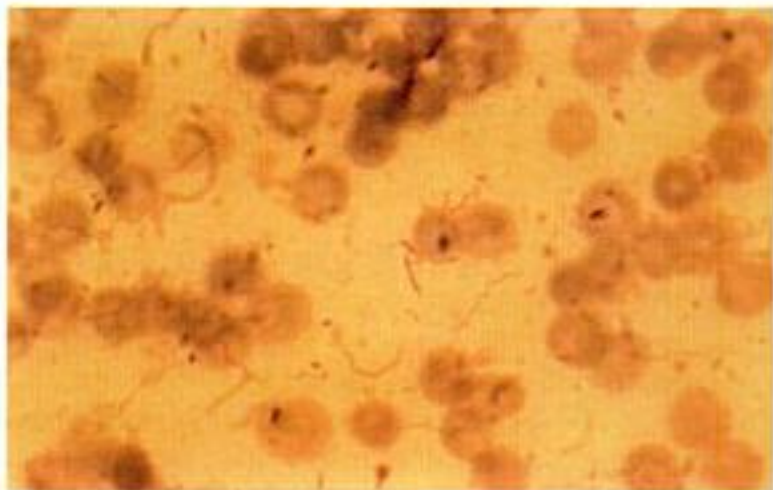


Fig. 22-1. Extendido de estomatitis de Vincent coloreado con Giemsa ($\times 1200$).

Más excepcionalmente se encuentran bacilos grampositivos, como *Actinomyces*, o gramnegativos; los anaerobios sólo explican el 1,3% de los casos.

Aspectos clínicos

Como se trata de una enfermedad endógena, es posible afirmar que prácticamente no hay período de incubación. Como ya se ha dicho, para que se

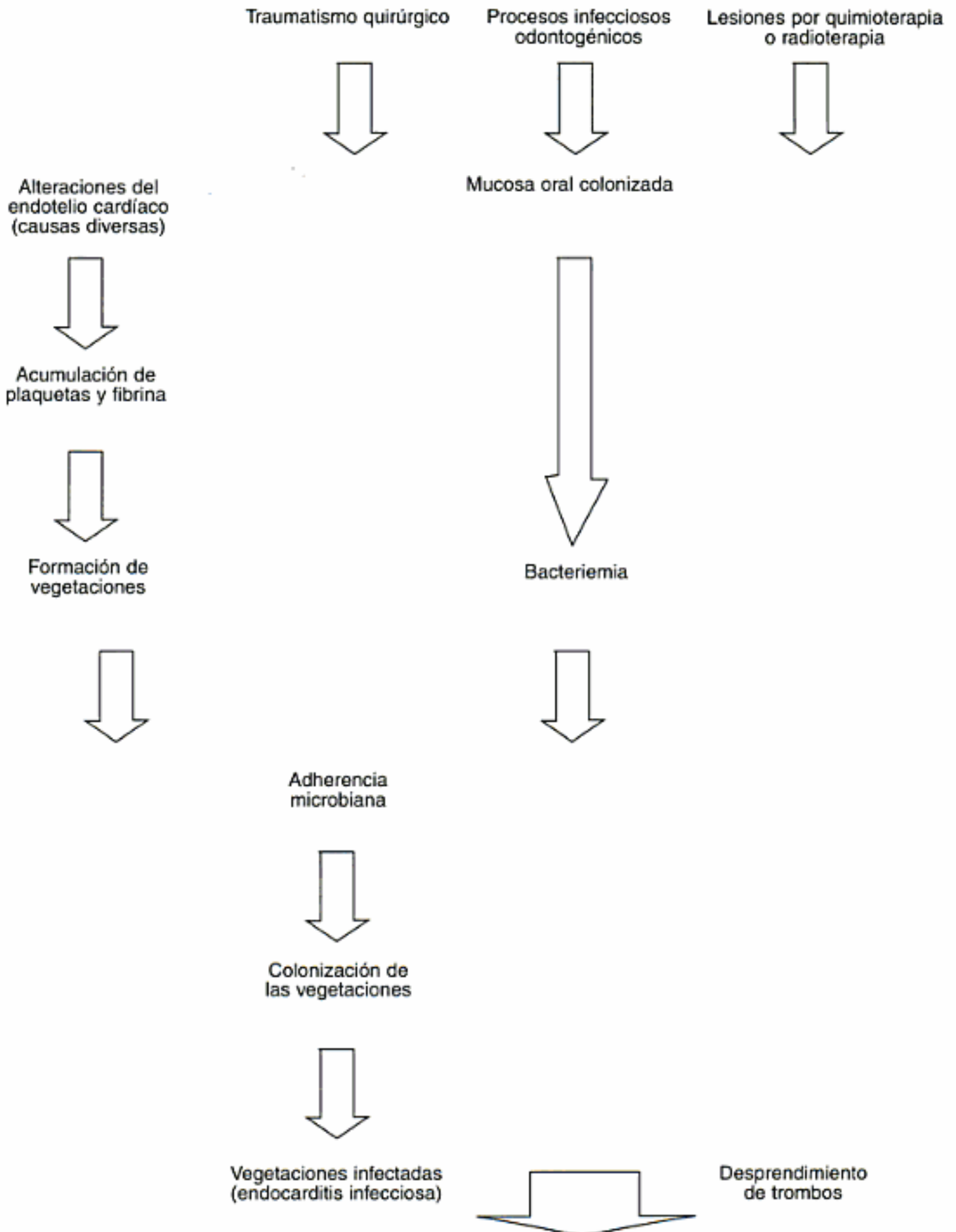


Fig. 22-2. Patogenia de la endocarditis infecciosa de origen bucal. (Adaptada de Scheld y Sande. En Mandell, Douglas, Bennett).

produzca esta patología confluyen causas locales, en este caso de la boca, con factores o alteraciones del endotelio cardiovascular, que favorecen la adherencia (fig. 22-2).

Los síntomas consisten en decaimiento, astenia, anorexia en un 25% de los casos, hipertermia de 38 °C, sudoración nocturna, aumento de la frecuencia del pulso, taquicardia, disnea de esfuerzo y aumento de la presión arterial; en muchos casos hay petequias o hemorragias conjuntivales.

En la auscultación del corazón se oyen soplos cardíacos.

Parte de las vegetaciones puede desprenderse y causar embolias, que conducen a síntomas neurológicos y alteraciones de otros órganos.

El electrocardiograma no es un método diagnóstico útil; es mucho más aconsejable la ecocardiografía, en la que pueden observarse alteraciones.

En algunos enfermos, además de las manifestaciones endoteliales, hay pericarditis y abscesos del miocardio.

El diagnóstico clínico debe confirmarse con el del laboratorio de microbiología.

Diagnóstico de laboratorio

Las pautas diagnósticas se mencionan a título ilustrativo, dado que escapan al terreno odontológico.

Durante el primer día de internación deben efectuarse tres extracciones de sangre con intervalos adecuados entre cada una de ellas. Al día siguiente se realiza otra extracción.

Luego se procede a realizar el hemocultivo. El laboratorista debe considerar que existen bacterias con variantes nutricionales y, por lo tanto, debe agregar ciertos nutrientes a los cultivos y tener presente que puede tratarse de microorganismos con distintos requerimientos de oxígeno. Los cultivos no deben descartarse antes de las 3 semanas o más.

Hay técnicas de difusión en gel de agar o contrainmunolectroforesis para detectar ácidos teicoicos de la pared celular de *S. aureus*, que permiten acelerar el resultado, el que para poder establecer el diagnóstico definitivo debe ser repetidamente positivo para el mismo microorganismo.

En las muestras de sangre el examen microscópico directo no es de utilidad.

El método de lisis-centrifugación (lisar los glóbulos rojos con sustancias químicas y luego centrifugar) permite recuperar mayor número de cultivos positivos de hongos.

Otras veces se realizan pruebas de antigenemia, que reducen el período de estudio.

Existen otros recursos diagnósticos, como el radioinmunoensayo (véase cap. 31-6).

Tratamiento

Por el riesgo que implica esta enfermedad para la vida del paciente, su tratamiento está en manos del médico.

Al odontólogo se le reserva un papel preponderante en la prevención.

Por otra parte, como los agentes son muy variados, los antimicrobianos a utilizar dependen de cada caso.

Prevención

Ésta debe estar sustentada por cuatro pilares.

1. Una buena historia clínica, como destacamos en otras partes de esta obra; el organismo humano es una unidad biológica y así podrá averiguarse si existen causas predisponentes.
2. Si se han detectado estas causas, antes de cualquier maniobra odontológica debe someterse al paciente al régimen antimicrobiano recomendado por la *American Heart Association*, aceptado en nuestro medio (véase más adelante).
3. Poner la boca del paciente en condiciones de microbiota compatible con la salud por medio de la enseñanza de técnicas adecuadas de higiene oral.
4. Respetar escrupulosamente las medidas de asepsia.

Debe aconsejar a estos enfermos que efectúen visitas odontológicas periódicas para comprobar si existen cambios en el estado de salud bucal.

Recomendaciones para la profilaxis antibiótica de la endocarditis infecciosa

Para pacientes adultos no hipersensibles a las penicilinas: si toleran la vía oral: deben administrarse 3 g de amoxicilina 1 hora antes del procedimiento y luego 1,5 g seis horas después.

Para adultos que no toleran la vía oral: se indica ampicilina 3 g por vía intramuscular (IM) o intravenosa (IV) 30 minutos antes.

Para niños no hipersensibles a las penicilinas: si toleran la vía oral, se prescribe amoxicilina; si debe recurrirse a las vías IM o IV, se indica ampicilina 50 mg/kg de peso 30 minutos antes de la consulta.

Pacientes hipersensibles a las penicilinas: con tolerancia a los fármacos por vía oral: hay tres opciones: Clindamicina: adultos 600 mg 1 hora antes y niños 20 mg/kg de peso 1 hora antes. Cefalexina o cefadroxilo: adultos 2 g 1 hora antes y niños 50 mg/kg de peso 1 hora antes. Azitromicina o claritromicina: adultos 500 mg 1 hora antes y niños 15 mg/kg de peso 1 hora antes.

ENFERMEDADES BACTERIANAS

1º PARTE

ESTREPTOCOCOS

Marta Negroni

Contenidos

Características generales. Clasificación de los estreptococos. Factores de virulencia y composición estructural. Fuentes de infección. Transmisión. Cuadros clínicos. Enfermedades estreptocócicas. Enfermedades posestreptocócicas. Otros estreptococos y *enterococcus*. Diagnóstico. Nociones de tratamiento. Prevención.

Objetivos

- Citar las características generales del género.
- Describir en qué se basan las clasificaciones de los estreptococos.
- Enumerar los factores de virulencia de los estreptococos y su acción.
- Describir las fuentes de infección de los estreptococos.
- Mencionar las especies más patógenas.
- Citar las enfermedades estreptocócicas y posestreptocócicas.
- Enumerar los métodos de diagnóstico.
- Comentar la sensibilidad de los estreptococos a los antimicrobianos.
- Mencionar medidas preventivas.

CARACTERÍSTICAS GENERALES

Los estreptococos son microorganismos sumamente difundidos y, como ya se ha visto (cap. 18), la cavidad bucal alberga gran número de especies de este género. Estos gérmenes, que hasta hace poco se denominaban “cocos piógenos”, pueden provocar distintas patologías como consecuencia de sus productos o por el hecho de ser bastante resistentes a la fagocitosis.

Los estreptococos tienen forma esférica y están agrupados en cadenas de longitud variable (fig. 23-1). Cada uno de los elementos aisladamente tiene un diámetro que oscila entre 0,6 y 1 a 2 μm . La división se hace en un plano perpendicular al eje de la cadena. En ocasiones adquieren el aspecto de diploestreptococos. Las formaciones en cadena son consecuencia de que los microorganismos permanecen adheridos por una parte de la pared celular.

Los estreptococos son grampositivos y no esporulados, carecen de flagelos de modo que son

inmóviles, presentan prolongaciones extracelulares del tipo de las fimbrias y pueden tener cápsula.

Son catalasa-negativos; se comportan como anaerobios facultativos o estrictos, pero según los productos de las reacciones de óxido-reducción, se comprueba que son fermentadores. Producen ácido láctico.

CLASIFICACIÓN DE LOS ESTREPTOCOCOS

Las clasificaciones que se han propuesto para estas bacterias son innumerables y se basan en sus distintas características; las más actuales tienen en cuenta la biología molecular.

Una de ellas considera la capacidad de estos cocos para lisar los glóbulos rojos, lo que puede ponerse de manifiesto si se siembran en placas que contengan agar sangre (véase cap. 31). En este medio de cultivo algunas especies producen un halo incoloro alrededor de la colonia debido a una

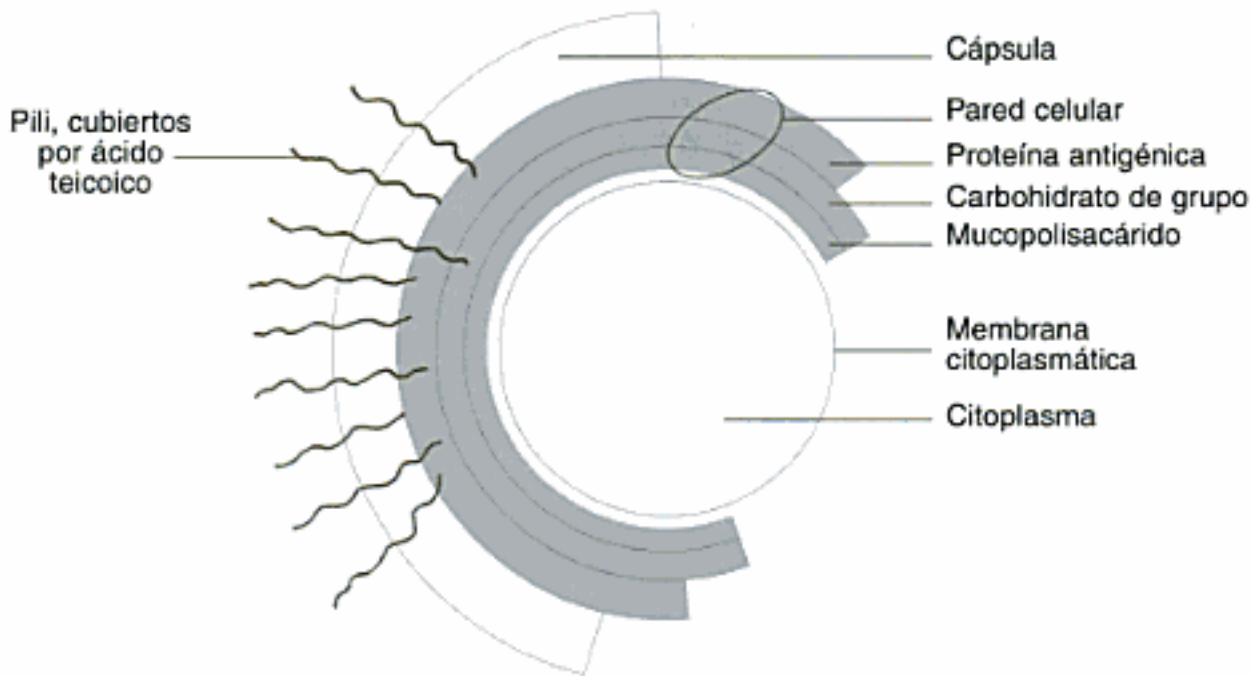


Fig. 23-2. Pared celular de los microorganismos del género *Streptococcus*.

Pueden formarse complejos antígeno-anticuerpo (IgG), activar el complemento y producir más daño tisular. Como incita la producción de anticuerpos, se la utiliza como herramienta diagnóstica.

Aunque en este momento su empleo ha decaído, la prueba denominada ASO ha sido de gran utilidad.

Estreptolisina S

La estreptolisina S, que debe su nombre a que la producen algunas cepas en presencia de suero, sirve para identificar a los estreptococos en agar sangre; tiene acción lítica para los leucocitos pero no es un antígeno, posiblemente porque su tamaño es menor. Como la anterior, puede afectar los glóbulos rojos. Es termolábil.

Estreptocinasa (fibrinolisisina)

La estreptocinasa es una proteína natural antigénica que secretan los estreptococos de los grupos A, C y G. Esta proteína transforma el plasminógeno en plasmina, que digiere la fibrina y así impide la formación de una barrera de esta sustancia, por lo que favorece la diseminación. Se la utiliza en los pacientes cardíacos, porque evita los trombos.

Hay dos formas de estreptocinasa, la A y la B, ambas son marcadores útiles de infección.

Desoxirribonucleasa

Hay cuatro tipos de esta enzima presentes en los de los grupos A, C y G. Las desoxirribonucleasas hidrolizan ácidos nucleicos y nucleoproteínas

que los estreptococos utilizan como nutrientes. Al reducir la viscosidad del pus, facilitan la diseminación de la infección.

Hialuronidasa

La hialuronidasa, que es producida por los estreptococos de los grupos A, B, C y G, favorece la difusión en los tejidos y por eso también se la conoce como "factor de difusión".

NADasa

Se relaciona con un efecto leucotóxico y es producida por los estreptococos de los grupos A, C y G.

Lipoproteinasa o factor de opacidad del suero

Esta enzima es característica del grupo A tipo M; la lipoproteinasa está relacionada con la proteína M, es antigénica y sirve para identificar a los estreptococos. Los estreptococos del grupo A también pueden segregar C5a peptidasa; esta enzima inactiva al componente C5a del complemento que impide que se una a los polimorfonucleares y altera la efectividad de este elemento de defensa. **Se han detectado otras enzimas del tipo de las amilasas y las esterasas.**

FUENTES DE INFECCIÓN

Los estreptococos son especies residentes de la boca que se encuentran aumentadas en la saliva de

los niños, y que colonizan el tracto gastrointestinal, la vagina y el aparato respiratorio superior.

Algunas cepas son altamente patógenas, mientras que otras se comportan sólo como comensales. Todas las zonas mencionadas pueden servir como fuentes de infección, además de las personas enfermas.

Transmisión

La transmisión tiene lugar por contacto directo en forma horizontal o vertical en el momento del nacimiento.

Los más expuestos a contraer estas infecciones son los recién nacidos que carecen de anticuerpos protectores adquiridos de la madre.

CUADROS CLÍNICOS

Las enfermedades generadas por este grupo de bacterias son sumamente variadas y pueden afectar cualquier órgano o tejido. Puede clasificárselas desde distintos puntos de vista, pero lo más usual es que se las considere dentro de dos grandes categorías: las estreptocócicas y las posestreptocócicas.

Enfermedades estreptocócicas

Las enfermedades estreptocócicas se agrupan según el tipo de estreptococos que las producen, y según su localización y su evolución. De acuerdo con estos parámetros, entre los estreptococos β -hemolíticos del grupo A, el conocido *Streptococcus pyogenes* ocasiona cuadros por invasión, como la erisipela, la fiebre puerperal y la sepsis, y

Cuadro 23-2. Cuadro de enfermedades estreptocócicas

Enfermedades estreptocócicas o supurativas	→	Erisipela
		Faringitis
		Sepsis
		Impétigo o piodermia
		Celulitis
		Fiebre puerperal
		Fascitis necrosante
		Miositis
		Síndrome de shock tóxico
	Bacteriemia	
Enfermedades posestreptocócicas o no supurativas	→	Fiebre reumática
		Glomerulonefritis aguda

por acción local provoca faringitis, impétigo y glomerulonefritis (cuadro 23-2).

La **erisipela** que se manifiesta a nivel de la piel, en distintas zonas y con un enrojecimiento intenso y edema debido al compromiso linfático, obedece a la entrada de los estreptococos por vía cutánea. La enfermedad tiende a extenderse periféricamente.

Si, además de la piel, hay invasión del tejido celular subcutáneo, el cuadro se identifica como **celulitis**.

La **fiebre puerperal** es una infección posparto y en este caso el microorganismo accede por el útero.

La **sepsis** es una infección generalizada que resulta de la invasión de estos agentes a través de una herida o un traumatismo.

Las **faringitis** es consecuencia de la instalación de los estreptococos β -hemolíticos en el epitelio faríngeo. Afecta principalmente a niños entre los 5 a 15 años.

El **impétigo o piodermia**, una infección cutánea bastante frecuente en los niños, consiste en lesiones ampollares de la piel en las que luego se forma pus y aparecen costras; se trata de una enfermedad que se disemina y contagia fácilmente. Es posible que estas lesiones se observen alrededor del orificio bucal o con asiento en las comisuras labiales, forma que se denomina **queilitis estreptocócica**; hay compromiso ganglionar.

En cuadros como la **fascitis necrosante**, la **miositis**, la **celulitis** y el **síndrome del shock tóxico estreptocócico** la evolución es fulminante.

La **fascitis necrosante** (o gangrena estreptocócica) comienza con un traumatismo a veces no evidente en la piel, gana el tejido celular subcutáneo y se disemina muy fácilmente.

La **miositis** es una afección purulenta y bastante grave de los músculos. La **celulitis** se citó más arriba.

El **síndrome del shock tóxico estreptocócico** se inicia en la piel o los tejidos blandos, se debe a cepas muy agresivas y es posible incluso en personas saludables, pero indudablemente los de mayor riesgo son los enfermos HIV positivos, los diabéticos, cancerosos y drogadictos endovenosos.

Enfermedades posestreptocócicas

Las enfermedades posestreptocócicas son las que se padecen como consecuencia de haber sufrido alguna enfermedad estreptocócica previa.

La **fiebre reumática** puede ser resultado de episodios reiterados de faringitis. Cuando la enfermedad está instalada, produce carditis, eritema cutáneo, nódulos subcutáneos y poliartritis. **Entre las articulaciones afectadas puede estar la articulación temporomandibular.**

La **glomerulonefritis** está más relacionada con las estreptococias cutáneas, en especial con las ocasionadas por los estreptococos del grupo A.

Importancia odontológica

Streptococcus pyogenes es el agente etiológico de la **escarlatina**, una enfermedad eruptiva que complica una faringitis y que es muy contagiosa. En la boca la enfermedad se manifiesta con alteraciones de la lengua (**lengua aframbuesada**) y a nivel cutáneo con sarpullido, a excepción de la zona que rodea la boca (**palidez peribucal**). Éste desaparece a los 5 o 7 días y da lugar a una intensa descamación. Puede complicarse con faringitis (problema 23-1).

Estos gérmenes también son responsables de algunos casos de **endocarditis** (véase cap. 22), de **infecciones urinarias** y hasta de **meningitis**.

Los estreptococos de los grupos C y G, entre los que pueden mencionarse *S. intermedius*, *S. anginosus* y *S. milleri*, provocan infecciones neonatales, artritis, faringitis, meningitis, bacteriemia, sepsis posparto, abscesos y endocarditis y, como ya se ha dicho, participan en el proceso carioso (véase cap. 19).

Estas bacterias suelen formar parte de la biota de la orofaringe. En la actualidad existe una vacuna preparada con el antígeno capsular.

Otros estreptococos y enterococcus

Hay quienes ubican entre las enfermedades estreptocócicas las debidas a *Streptococcus pneumoniae*, que, como su nombre lo indica, suele provocar un tipo de neumonía; este microorganismo también se aísla de casos de bacteriemia, otitis, sinusitis, meningitis y endocarditis. No se mencionan más detalles, ya que escapan al ámbito bucal.

Otros géneros emparentados con los estreptococos con menor frecuencia que éstos, causan cuadros parecidos. Como los enterococos, que antes se incluían en este grupo, ahora se consideran más asimilables a *Staphylococcus* (véase cap. 18).

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se basa fundamentalmente en la detección de los antígenos del microorganismo, dado que su morfología no permite diferenciar entre las cepas patógenas y las comensales. Existen distintas pruebas e incluso equipos comerciales que dan resultados específicos.

En los casos de faringitis se obtiene una muestra por hisopado de fauces, se la cultiva en agar sangre para comprobar si se trata de un microorganismo β -hemolítico y luego se completa con otras pruebas. El primer resultado del cultivo en agar sangre ayuda a establecer una rápida terapéutica.

NOCIONES DE TRATAMIENTO

El antibiótico de elección es la penicilina; si bien hasta el momento no se han detectado cepas resistentes, ha habido cepas tolerantes; en esos casos se busca la asociación con otros antimicrobianos. La eritromicina, además de otros, también es útil.

Si se tratara de una infección mixta con *Staphylococcus aureus*, es conveniente indicar oxacilina o vancomicina.

PREVENCIÓN

La prevención consiste básicamente en tratar cuanto antes a las personas afectadas y evitar tomar contacto con ellas.

Los portadores nasales o los niños con infecciones cutáneas, así como aquellos con faringitis sin tratar, son peligrosos, porque actúan como amplificadores o diseminadores del microorganismo. Se calcula que el estado de portador es del 15 al 20% de la población.

Se preconiza que a las embarazadas se les suministre antibioticoterapia, si son portadoras de esta bacteria. Hay intenciones de lograr que se prevenga por medio de inmunoterapia.

Resumen

Los estreptococos se presentan como cadenas de cocos grampositivos inmóviles, no esporulados, capsulados, con fimbrias, anaerobios o mejor fermentadores. En este género se ubican especies patógenas y comensales. Se los clasifica de acuerdo con distintas características; por ejemplo, por su habilidad para lisar glóbulos rojos se los denomina β -hemolíticos, α -hemolítico o gamma-hemolíticos y, de acuerdo con sus antígenos de pared, se los ubica en grupos A, B, C, D, etcétera.

Los patógenos producen alteraciones, porque secretan diversas enzimas y toxinas (estreptolisinas O y S, estreptoquinasa, desoxirribonucleasa, hialuronidasa, NADasa y toxina eritrogénica).

La fuente de infección se encuentra en los sujetos que portan cepas patógenas en las fauces y otras localizaciones, o bien, en los enfermos.

Los cuadros clínicos varían de acuerdo con el agente etiológico, la localización y la evolución.

Habitualmente se habla de enfermedades estreptocócicas debidas a *S. pyogenes* (erisipela, fiebre puerperal, faringitis, impétigo, fascitis necrosante y otras).

Otras especies de *Streptococcus*, como *S. intermedius*, *S. milleri* y *S. anginosus*, causan artritis, sepsis y abscesos, entre otras enfermedades.

Por último, dentro de las estreptococias, también se ubica la neumonía por *S. pneumoniae*, aunque éste también puede ser el agente causal de otras patologías.

Las faringitis reiteradas y las infecciones cutáneas, con más frecuencia que otras enfermedades estreptocócicas, pueden ser el origen de enfermedades posestreptocócicas, como la fiebre reumática y la glomerulonefritis.

El diagnóstico más útil es el que detecta los antígenos específicos. En los casos de faringitis puede ganarse tiempo si se efectúa un cultivo en agar sangre del material obtenido por hisopado.

El tratamiento, que debe administrarse lo antes posible, se realiza con penicilina o con algún otro antimicrobiano por un período adecuado.

No existen medidas preventivas específicas y sólo puede recurrirse al aislamiento de los enfermos, el tratamiento temprano y la detección de los portadores.

Preguntas de revisión

1. Cite las características de los estreptococos.
2. ¿Qué estructuras de interés poseen estas bacterias?
3. ¿Qué clasificaciones de los estreptococos se tienen en cuenta?
4. Mencione como mínimo cuatro enzimas o toxinas de los estreptococos y su acción.
5. ¿Qué fuentes de infección de los estreptococos puede citar?
6. ¿Qué enfermedades ocasiona *S. pyogenes*?
7. ¿Qué afecciones producen *S. intermedius*, *S. anginosus* y otros de este grupo?
8. Además de una neumonía, ¿qué otras enfermedades puede provocar *S. pneumoniae*?
9. ¿Qué complicación posestreptocócica puede ser consecuencia de la faringitis?
10. ¿Qué complicación puede ser consecuencia de enfermedades cutáneas causadas por estreptococos del grupo A?
11. ¿Con qué antimicrobianos se encara el tratamiento?
12. ¿Qué método de prevención de estreptococias conoce?

BIBLIOGRAFÍA

Bisno AL. Streptococcus pyogenes. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice in infectious diseases. 4ª ed. EE.UU.: Churchill Livingstone, 1995; pp.1786-819.

Learreta JA. Regeneration ad integrum of condyle head in a patient with temporomandibular disorders. J Craneomandibular Practice. 1999;17(3):221-227.

Negróni M. Enfermedades bacterianas. Primera parte: Estrep-

tococos. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 319-324.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 23: Streptococcus. En: Microbiología Médica, 5ª Edición. Madrid: Editorial Elsevier, 2006; pp. 237-258.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Capítulo 15: Microbial mechanisms of pathogenicity. En: Microbiology. An introduction. 8ª ed. San Francisco: Pearson Benjamín Cummings, 2004; pp. 437-446-447.

ENFERMEDADES BACTERIANAS

2º PARTE

ESTAFILOCOCOS

Marta Negroni

Contenidos

Características del género. Hábitat. Especies patógenas. Composición antigénica y factores de virulencia. Leucocidina. Hemolisina. Exfoliatina o toxina epidermolítica (exotoxina). Toxina del síndrome de shock tóxico (TSSS-I) o toxina pirogénica. Otros productos. Fuente de infección. Epidemiología. Personas susceptibles. Cuadros clínicos. Infecciones cutáneas. Síndrome del shock tóxico. Neumonía. Osteomielitis. Infecciones de heridas. Enteritis o enterocolitis. Otras infecciones. Infecciones en odontología. Botriomicoma o actinofitosis. Diagnóstico. Nociones de tratamiento. Prevención.

Objetivos

- Describir las características generales del género.
- Enumerar las especies patógenas.
- Citar el hábitat de estos microorganismos.
- Describir los factores de virulencia.
- Establecer las diferencias entre *S. aureus* y no coagulasa positivo.
- Mencionar los cuadros clínicos que causa este grupo de bacterias.
- Citar el problema que plantean en medicina.
- Mencionar tipos de diagnóstico, tratamiento y medidas de prevención.

CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO

Los estafilococos son cocos grampositivos de 0,5 a 1,5 μm de diámetro, con agrupación irregular que semejan racimos de uvas como consecuencia de su división irregular en los tres planos del espacio (cuadro 23-3). Si bien se trata de microorganismos inmóviles y no esporulados, figuran entre los microbios **no esporulados más resistentes**. Estos gérmenes pueden tolerar bastante bien la desecación, el calor, las altas concentraciones salinas e incluso algunos antisépticos.

Los estafilococos son microorganismos aerobios o anaerobios facultativos catalasa-positivos. Aunque en los exámenes microscópicos del material de cultivo no se visualiza una cápsula, se cree que in vivo pueden presentar esta estructura. Estos

microorganismos que se desarrollan bien en diferentes medios de cultivo con una amplia variación térmica fermentan azúcares con producción de ácido láctico pero no de gas.

En la actualidad este género comprende treinta y cinco especies o más y junto con otros géneros integra la familia *Micrococcaceae*. De éstos, el género *Micrococcus* (ahora desdoblado en cuatro géneros), además del género *Staphylococcus*, puede comportarse como patógeno oportunista. Los estafilococos se diferencian del género *Micrococcus* por ser sólo aerobios y oxidar azúcares. Otro género es *Stomatococcus*, que, como su nombre lo indica, son "cocos bucales" y fermentan azúcares con producción de ácidos (véase cap. 18).

El género restante, *Planococcus*, es el único con movilidad y no está relacionado con el ser humano (cuadro 23-4).

Cuadro 23-3. Características del género *Staphylococcus*

Morfología	Cocos en racimos
Condiciones de cultivo	Aerobios o anaerobios facultativos
Características particulares	Catalasa-positivos, bastante resistentes
Ubicación	Muy difundidos en la naturaleza

HÁBITAT

Las bacterias del tipo de los estafilococos están ampliamente distribuidas en la naturaleza, sobre todo en la piel, las glándulas cutáneas y las mucosas, los tractos intestinal y genitourinario, y el aparato respiratorio superior.

ESPECIES PATÓGENAS

Las especies más aisladas de las infecciones humanas son *Staphylococcus aureus*, el único estafilococo coagulasa-positivo, *Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* y *S. saprophyticus*. En los países de Europa y en los Estados Unidos también se les adjudican alteraciones a *S. schleiferi*. *S. aureus* es un **patógeno hospitalario muy temido, porque es responsable de altas tasas de morbimortalidad**.

En términos más amplios este microorganismo es capaz de producir una miríada de infecciones, tanto localizadas como diseminadas, que pueden afectar a cualquier órgano o tejido con una gravedad variable.

En los cultivos *S. aureus* es bastante fácil de reconocer por la producción de un pigmento amarillo dorado que le da el nombre a la especie. Además, la capacidad de fermentar manitol y segregar una enzima que coagula el plasma (coagulasa) permite su identificación.

COMPOSICIÓN ANTIGÉNICA Y FACTORES DE VIRULENCIA

Los estafilococos poseen un antígeno específico de especie, el **polisacárido A**, unido al muco-

péptido y, por lo tanto, presente en la pared celular (fig. 23-3). En dicha pared también se encuentra la **proteína A**, que se une a la región Fc de la IgG, lo que le da actividad antifagocítica.

El **peptidoglucano** de la pared, que actúa como una endotoxina, atrae leucocitos PMN y activa la lisozima, podría hidrolizar el complemento.

Los **ácidos teicoicos** favorecen la adhesión, al igual que la capa de limo o *slime*, constituida por hidratos de carbono y proteínas extracelulares. Esta capa facilita la adhesión e inhibe la quimiotaxis y la fagocitosis.

Entre las enzimas, una de las más conocidas es la **coagulasa o factor *clumping*** (fig. 23-3), de la cual existen hasta ocho tipos antigénicos. La coagulasa formaría un coágulo que internalizaría el microorganismo, que así sería más difícil de fagocitar. Se ha comprobado que esta enzima aumenta la permeabilidad capilar y estimula la contracción del músculo liso. No es el único factor de patogenicidad y las cepas que no la secretan también pueden ser virulentas.

La hemolisina estafilocócica o toxinas α , β , γ y δ se diferencian por el tipo de eritrocitos que lisan. Estas toxinas también actúan sobre otras células:

La toxina α daña el músculo liso, las células de la piel, los macrófagos y las plaquetas.

La toxina β o esfingomielinasa C es especialmente tóxica para las células con esfingomielina.

La toxina γ parece actuar sobre los fosfolípidos de la membrana.

La toxina δ es tóxica para muchas células polimorfonucleares, macrófagos, linfocitos y plaquetas.

Leucocidina

Esta toxina posee dos compuestos (F y S) que actúan en forma sinérgica para dañar PMN y macrófagos; si bien su mecanismo de acción no es muy claro, aparentemente parecería que consiste en alterar la permeabilidad de la membrana celular.

Hemolisina

Produce destrucción de los eritrocitos por medio de canales proteicos.

Exfoliatina o toxina epidermolítica (exotoxina)

Hay dos tipos A y B; son codificadas por un plásmido y producen una lesión cutánea conocida como dermatitis aguda exfoliativa.

Cuadro 23-4. Familia Micrococcaceae

- *Staphylococcus*
- *Micrococcus*
- *Stomatococcus*
- *Planococcus*

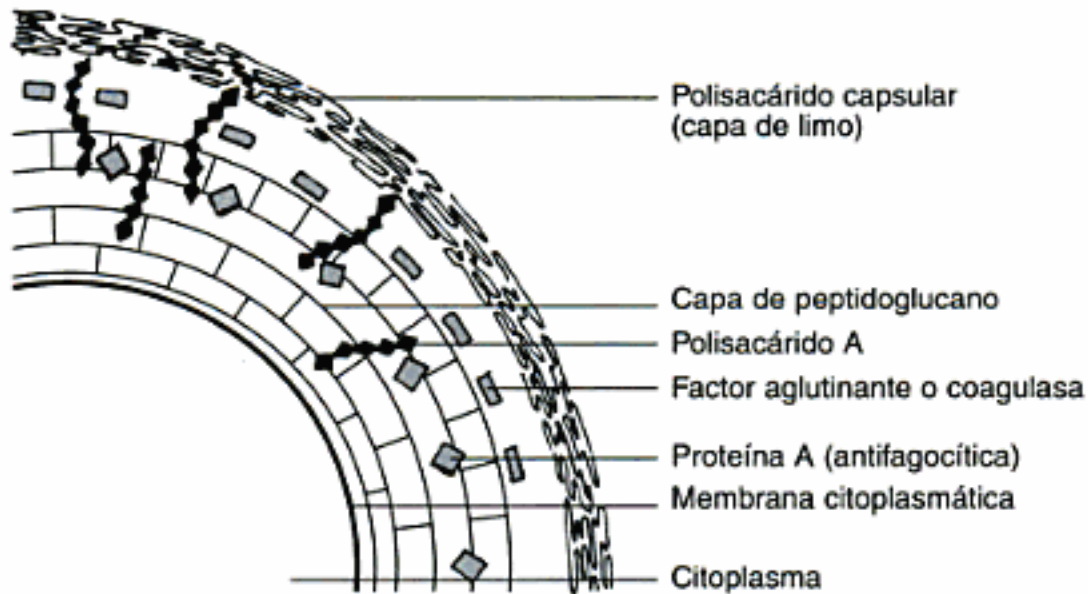


Fig. 23-3. Estructura de la pared de los microorganismos del género *Staphylococcus*.

Toxina del síndrome de shock tóxico (TSSS-I) o toxina pirogénica

Se trata de una toxina semejante a las que producen los estreptococos y se la considera un superantígeno. Puede causar una erupción escarlatini-forme. No se la encuentra en todos los casos de shock séptico estafilocócico (SSS).

Otros productos

Penicilinasa o β -lactamasa: destruye la penicilina.

Catalasa: interfiere sobre mecanismos de defensa dependientes del oxígeno.

Hialuronidasa o factor de difusión.

Fosfodiesterasa: cliva el ácido nucleico.

Lipasa.

Fibrinolisisina o estafilocinasa: es muy semejante a la estreptoquinasa.

Se ha identificado un **antígeno estafilocócico de complementación** que aumenta el consumo de los componentes del complemento hasta C5, lo que implica una alteración de la opsonización (cuadro 23-5).

FUENTE DE INFECCIÓN

S. aureus se encuentra en la nasofaringe del 20 al 40% de las personas, especialmente en el vestíbulo nasal anterior, por su adhesión a células de la mucosa mediante el ácido teicoico. Casi todos los individuos han albergado estos microorganismos en algún momento de su vida. Si se trata de personas con estadía prolongada en hospitales, como los

médicos o las enfermeras, estas cifras pueden subir al 50-70%. También hay especies en la piel y la ropa, y raras veces en la vagina, el recto y la región perineal. En la boca la cantidad de microorganismos presentes es escasa. *S. aureus* coloniza con frecuencia a los recién nacidos, especialmente en el muñón del cordón umbilical.

EPIDEMIOLOGÍA

Por ser parte de la biota habitual de muchos organismos su distribución es cosmopolita y puede originar infecciones tanto endógenas como exógenas.

Personas susceptibles

Las personas susceptibles son los niños recién nacidos, los enfermos quirúrgicos, los pacientes quemados, los individuos tratados con agentes inmunosupresores, las personas con diversas inmu-

Cuadro 23-5. Antígenos y factores de virulencia

- Peptidoglucano, actúa como endotoxina
- Polisacárido A, específico de especie
- Proteína A, función antifagocítica
- Ácidos teicoicos, favorecen la adherencia
- Capa de limo o *slime*, adherencia
- Coagulasa, evita la fagocitosis
- Hemolisinas o toxinas α , β , γ y δ , lisan diversas células
- Leucocidina, daña células blancas
- Toxina epidermolítica, afecta la piel
- Toxina del síndrome del shock tóxico
- Enterotoxinas, intoxicaciones alimentarias
- Otros productos: penicilinasa, hialuronidasa, fosfodiesterasa, estafiloquinasa catalasa, etcétera

Enteritis o enterocolitis

Estas manifestaciones, que pueden asentar en el intestino grueso o delgado, casi siempre son secundarias a una cirugía intestinal seguida de un tratamiento antimicrobiano capaz de destruir la microbiota normal de esa zona.

Otras infecciones

Los estafilococos son agentes responsables de otitis, endocarditis bacteriana subaguda (véase cap. 22), ciertas meningitis, vasculitis séptica, pericarditis, artritis séptica, bursitis séptica y piodermitis. Como se dijo al comienzo, cualquier órgano o tejido es susceptible a este tipo de afecciones (cuadro 23-6).

Staphylococcus saprophyticus es un agente causal de infecciones urinarias, especialmente en las mujeres, y se sospecha que en esta zona se lo podría portar como comensal.

Esta bacteria se diferencia de *S. aureus* en que es coagulasa-negativo; puede presentar resistencia a la novobiocina, pero es sensible a otros antimicrobianos.

Staphylococcus epidermidis causa infecciones hospitalarias, particularmente de dispositivos de reemplazo articular, como por ejemplo prótesis de cadera, en las que se vuelve muy resistente al tratamiento y sólo puede ser erradicado eliminando temporariamente el implante. También se lo encuentra en casos de reemplazos valvulares, como colonizador de catéteres, en pacientes con diálisis peritoneal, en líquido cefalorraquídeo y en casos de endoftalmítis. La colonización de los dispositivos artificiales se ve favorecida por la producción del polisacárido extracelular, *slime*, que colabora en la adhesión.

Infecciones en odontología

Se han encontrado infecciones endodónticas y algunos abscesos periapicales. Las osteomielitis de los huesos maxilares de determinados pacientes son causadas por microorganismos de este género, que también han sido aislados de pacientes con parotiditis, manifestaciones gingivales, periodontitis y estomatitis.

Botriomicoma o actinofitosis

Éste es un cuadro muy parecido a la actinomicosis (véase cap. 22) (problema 23-2), incluso con secreción de pus que contiene granos, que aparece después de un proceso odontológico. Debe tenerse en cuenta que hay otros microorganismos que producen cuadros similares, por lo que el diagnóstico etiológico es de rigor.

DIAGNÓSTICO

Como son microorganismos comensales, debe establecerse si son la causa de la patología que se desea diagnosticar.

De la descripción de los cuadros clínicos surge que los materiales a obtener son sumamente variados. La microscopía directa, que no siempre es útil, tiene valor si se efectúa a partir de muestras extraídas de tejidos u órganos en los que puede descartarse la contaminación por microorganismos comensales.

El pus o los tejidos afectados deben sembrarse en agar sangre; además, pueden utilizarse medios selectivos para *S. aureus*. Es necesario investigar la producción de pigmento y realizar otras pruebas, como la de la coagulasa. Diferenciar un *S. aureus* de otros microorganismos es un procedimiento bastante sencillo; lo difícil es llegar al diagnóstico de especie en el grupo de los coagulasa-negativos.

No se utiliza la inoculación en animales de laboratorio.

Existen pruebas serológicas que permiten detectar anticuerpos contra el ácido teicoico.

Los métodos de biotipificación por fagos y el análisis del ácido nucleico brindan resultados satisfactorios para determinar especies, pero no están al alcance de todos los laboratorios.

Actualmente existen avíos comerciales para aproximarse a establecer la especie.

NOCIONES DE TRATAMIENTO

Como ya se ha dicho, hay resistencia a las drogas por parte de algunas cepas de estafilococos. Pueden usarse penicilinas semisintéticas para evitar la acción de la penicilinas, por ejemplo metilicina, oxacilina y otras. Si el microorganismo es resistente a esta droga, se prescribe vancomicina. Lo más aconsejable es practicar una prueba de sensibilidad a los antimicrobianos, aunque en ocasiones no da resultados confiables (cap. 31). Además, la dosis debe ser la adecuada para evitar resistencias futuras.

PREVENCIÓN

La prevención consiste en detectar a los portadores sanos, especialmente entre los trabajadores del área de la salud y entre las personas que se ocupan de la producción de alimentos, y tratarlos. Es aconsejable extremar las medidas de higiene en grupos de riesgo o de personas susceptibles. Además, debe evitarse el contacto con las fuentes de infección y minimizar el uso de antibióticos.

Resumen

Los estafilococos son microorganismos aerobios o anaerobios facultativos inmóviles y no esporulados, pero bastante resistentes.

Éstos gérmenes se desarrollan bien en medios de cultivo, son fermentadores de hidratos de carbono y toleran altas concentraciones salinas.

Se los encuentra como comensales en muchos individuos. Las especies más frecuentemente patógenas son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus*; les siguen en orden decreciente *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* y *S. schleiferi*.

Los estafilococos ejercen su acción patógena en cualquier órgano o tejido por invasividad, por secreción de toxinas o por los dos mecanismos. Como resultado de esto, hay diversas lesiones cutáneas, compromiso de órganos o sistemas y manifestaciones bucales. La gravedad y la evolución dependen de la localización y del hospedero afectado, pues hay factores individuales que favorecen estas enfermedades.

Los factores de virulencia forman parte de la célula bacteriana, especialmente los localizados en la pared, o bien, se trata de la secreción de diversas enzimas y toxinas.

La fuente de infección puede ser endógena o exógena, en este último caso a partir de enfermos o portadores nasales sanos.

El diagnóstico se basa fundamentalmente en los cultivos y en las características bioquímicas de estas bacterias. Algunos avios comerciales y ciertas pruebas serológicas son de utilidad.

El tratamiento se encara con antimicrobianos que actúen sobre la pared celular. Es preciso considerar la resistencia que puede tener el microorganismo frente a la penicilina u otros fármacos, por lo que es recomendable realizar una prueba de sensibilidad.

No hay métodos específicos de prevención. Deben extremarse las medidas de higiene, controlar a los portadores sanos, evitar la antibioticoterapia que destruya la microbiota local y proteger a las personas susceptibles.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué características importantes del género *Staphylococcus* puede señalar?
2. ¿Con qué otros géneros están emparentados los estafilococos?
3. ¿Qué hábitat pueden tener estos microorganismos?
4. ¿Cuáles son las especies más frecuentemente patógenas?
5. ¿Qué características distinguen a *S. aureus* de los estafilococos coagulasa-negativos?
6. ¿Cuáles son los dos problemas médicos que pueden plantear los estafilococos?
7. ¿Qué componentes estructurales tienen más importancia para la colonización por esta especie?
8. ¿Qué factores de virulencia poseen estas bacterias?
9. ¿Por qué mecanismos se producen las patologías?
10. Enumere cuadros clínicos atribuibles a *S. aureus*.
11. ¿En qué patologías odontológicas se los ha encontrado?
12. ¿Qué fuentes de infección pueden tener las enfermedades debidas a este género?
13. ¿A qué especie se atribuyen las infecciones de los distintos dispositivos o implantes?
14. Mencione pautas diagnósticas.
15. Dé nociones del tratamiento.
16. Indique medidas preventivas.

BIBLIOGRAFÍA

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 22. *Staphylococcus* y microorganismos relacionados. En: Microbiología Médica. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006; pp. 221-236.
 Negroni M. Capítulo 22: Enfermedades bacterianas. Segunda parte: Estafilococos. En: Microbiología estomatológica.

Fundamentos y guía práctica. 1ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. 2001; pp. 325-330.
 Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Capítulo 15: Microbial mechanisms of pathogenicity. En: Microbiology. An introduction. 8ª ed. San Francisco: Pearson Benjamín Cummings, 2004; pp. 437-446-447.

elongata, *N. sicca*, *N. subflava*, *N. lactamica*, *N. polysaccharae* y *N. mucosa*. Hasta el momento sólo dos especies se han comportado como patógenos humanos: *N. gonorrhoeae* y *N. meningitidis*. Esta última puede encontrarse como no patógena en portadores que la albergan en su orofaringe. Las neisserias no reconocen otro hábitat que no sea el humano.

Las dos especies patógenas de *Neisseria* (*N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae*) están en íntima relación con los polimorfonucleares.

NEISSERIA MENINGITIDIS O MENINGOCOCO

Neisseria meningitidis posee las características del género que se acaban de describir (cuadro 23-7). Hasta ahora se han identificado trece serogrupos de este microorganismo; se los designa con letras y los aislados con mayor frecuencia son el A, el B, el C y el W-135. Además, está el H, I, K, L, X, Y, Z y 29E.

Fuente de infección

Las fuentes de infección siempre son las personas portadoras o enfermas.

Transmisión

La transmisión tiene lugar por las partículas de Pflügge a través de aerosoles.

Cuadro 23-7. *Neisseria meningitidis*, características generales y cuadros clínicos causados por este microorganismo

Morfología	Diplococos arriñonados
Tinción	Gramnegativos
Condiciones de cultivo	Aerobios, ambiente húmedo con CO ₂
Hábitat	Microbiota nasofaríngea
Fuente de infección	Personas portadoras o enfermas
Transmisión	Gotitas de Pflügge
Vía de penetración	Vías aéreas
Factores de patogenicidad	Adhesión, evasión de la fagocitosis y endotoxina de lipooligosacáridos
Cuadro clínico	Meningitis cerebroespinal y otras localizaciones
Diagnóstico	Directo e indirecto
Tratamiento	Penicilina y otros antimicrobianos
Prevención	Vacuna polivalente

Vía de penetración

Las neisserias ingresan por la nasofaringe, desde allí se dirigen al torrente circulatorio y si no hay anticuerpos contra el serotipo provocan bacteriemia.

Se inicia un cuadro similar a la gripe y luego los microorganismos acceden a las meninges, donde ocasionan la **meningitis cerebroespinal epidémica**.

Período de incubación

Varía de 2 a 10 días.

Patogenia

La capacidad de colonizar la mucosa de la nasofaringe por medio de las fimbrias es uno de los mecanismos de patogenicidad más importantes. Las neisserias evaden la fagocitosis gracias a la cápsula polisacáridica de la que están dotadas; además, tienen una endotoxina de lipooligosacáridos que causa daño vascular.

Epidemiología

La meningitis cerebroespinal puede presentarse como una endemia, como una epidemia e incluso como una pandemia (véase cap. 17).

La mayor incidencia se da en los niños menores de cinco años, pero también hay casos en ancianos.

En nuestro país en el 2007, se han diagnosticado varios casos, algunos de ellos mortales por tratarse de la forma septicémica, que evoluciona muy rápidamente.

Enfermedad clínica

Como se dijo, se inicia como un cuadro gripal y cuando llega a las meninges produce síntomas cerebrales, rigidez de nuca, cefaleas, mareos, vómitos, hipertermia y trastornos de la visión. La meningitis es una enfermedad grave que si no se trata a tiempo puede dejar secuelas, por lo general hipoacusia y artritis (problema 23-3).

La septicemia meningocócica se asocia con una tasa de mortalidad del 25%, aun con tratamiento.

Esta enfermedad se acompaña de petequias (manchas rojizas en la piel).

Otros cuadros o localizaciones

Estas bacterias pueden originar ciertas neumonías, artritis y uretritis. En esta última localización el pronóstico es bastante favorable (cuadro 23-8).

Cuadro 23-8. Cuadros clínicos causados por *Neisseria* y *Moraxella*

<i>N. meningitidis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>	Otras <i>Neisseria</i>	<i>Moraxella</i>
Meningitis	Uretritis	Infecciones	Bronquitis
Septicemia o meningococemia	Cervicitis	broncepulmonares	Neumonía
Trombosis de pequeños vasos	Salpingitis	Osteomielitis	Otitis
Neumonía	Proctitis	Endocarditis	Conjuntivitis
Uretritis	Septicemia o gonococemia	Otitis	
Artritis	Artritis		
	Conjuntivitis		
	Faringitis		
	Enfermedad inflamatoria pelviana		
	Perihepatitis		

Diagnóstico

El diagnóstico se establece a partir de muestras de sangre o de líquido cefalorraquídeo. Los métodos utilizados incluyen los directos y los indirectos.

En los extendidos coloreados con Gram los microorganismos se ven como diplococos gramnegativos junto con los polimorfonucleares. Además de los cultivos en agar chocolate con atmósfera de CO₂, puede recurrirse a técnicas serológicas de detección de antígenos, aunque no siempre son útiles para todos los grupos serológicos.

Las pruebas de ELISA se emplean con resultados bastante buenos.

Nociones de tratamiento

En un comienzo se utilizaron sulfonamidas, pero han sido reemplazadas por la penicilina. En la actualidad se han presentado casos de resistencia debido a alteraciones de las proteínas de unión a las penicilinas. En caso de no poder prescribir penicilina, se indica una cefalosporina de amplio espectro.

La penicilina no es útil para tratar de eliminar la portación por parte de personas asintomáticas.

Prevención

Existe una vacuna polivalente dirigida contra el polisacárido capsular. La protección no es total. En nuestro país no es de aplicación obligatoria. No debe administrarse a menores de dos años. Se aconseja indicarla en casos de epidemias o en poblaciones con un alto porcentaje de portadores (véase cap. 30).

NEISSERIA GONORRHOEAE (GONOCOCO)

La denominación *gonorrhoeae* deriva del griego (*gonos*, que significa semilla y *rhóia*, que quiere decir descarga) debido a que, en los enfermos que la padecen, hay salida de semen sin erección.

Este microorganismo, que es el agente causal de la enfermedad venérea denominada gonorrea o blenorragia, comparte las características generales del género *Neisseria* y, desde el punto de vista morfológico y por las condiciones de cultivo, es muy similar a *N. meningitidis*. También posee una cápsula atravesada por fimbrias y pili con pilina. Tiene una proteína externa, la **proteína I** (o proteína **Por**), que forma poros y es útil para la clasificación de las cepas aisladas; esta proteína favorece la invasión. Se identifican otras **dos proteínas**, la **II** (o proteína **Opa**) y la **III** (o proteína **Rmp**); la II tiene la función de adhesividad y la III está muy relacionada con la I.

Los gonococos, que necesitan hierro para su crecimiento y que al igual que los meningococos poseen la endotoxina de lipooligosacáridos, segregan una proteasa que puede clivar inmunoglobulinas (la IgA 1) y tienen una β -lactamasa.

Fuente de infección

La fuente de infección es el ser humano infectado.

Transmisión

La transmisión se produce en forma directa por contacto sexual.

Período de incubación

Es de sólo 2 a 5 días.

Patogenia

N. gonorrhoeae se adhiere a las células a través de las fimbrias, penetra por espacios intercelulares, se multiplica y llega a la región subepitelial.

Además de la adhesividad, la agresividad se debe a la capacidad antifagocítica de este microorganismo, a la endotoxina y a la producción de una inmunoglobulina A1 proteasa.

Epidemiología

La gonorrea es una enfermedad de distribución universal. Las mujeres son más susceptibles a ella que los hombres, pero en ambos sexos un solo contacto con un individuo infectado puede conducir a la aparición de los síntomas.

La enfermedad afecta a personas de muy diversas edades e incluso puede manifestarse en niños como consecuencia de un abuso sexual.

El reservorio de la enfermedad está representado por los sujetos infectados asintomáticos, especialmente mujeres con portación rectal y faríngea. Puede haber asociación con *Chlamydia*.

Cuadros clínicos

La infección por *N. gonorrhoeae*, que puede comprometer cualquier mucosa donde exista contacto sexual, causa uretritis purulenta en los hombres (con frecuentes complicaciones por vehiculización ascendente de la infección) y en las mujeres suele localizarse en el cérvix, desde donde se disemina a otros órganos.

Se han comunicado casos en los que esta infección se acompaña de septicemia e infecciones cutáneas y articulares.

En algunos enfermos provoca perihepatitis, conocida como el síndrome de Fitz-Hugh-Curtis. La conjuntivitis purulenta del recién nacido u oftalmía neonatorum es consecuencia de la contaminación producida en el canal vaginal en el momento de nacer.

En los hombres homosexuales puede haber gonorrea anorrectal y faringitis.

Importancia odontológica

En las personas con prácticas sexuales genitales es factible observar lesiones membranosas blancas o blanco-amarillentas en la mucosa del paladar, la lengua, los carrillos y las encías.

Diagnóstico

La microscopia con el método de Gram aporta indicios claros para el diagnóstico de la enfermedad genital, pero no es tan útil para demostrar la portación.

Si la enfermedad compromete la piel, el recto o la faringe, el diagnóstico por el simple examen microscópico puede fallar debido a la presencia de especies comensales.

Los cultivos en agar chocolate o en medios selectivos, como el de Thayer-Martin, adicionado con antimicrobianos, incubados en atmósfera con

CO₂ son muy exitosos y es posible diferenciar distintos tipos de colonias. En el comercio pueden adquirirse avíos para determinar el DNA. La prueba de ELISA también brinda resultados satisfactorios.

Nociones de tratamiento

Si bien en un primer momento se lograron curaciones con la penicilina G, como actualmente están aumentando los casos de resistencia a este antimicrobiano, es más aconsejable recurrir a la cefalosporina, a la ceftriaxona o al cloranfenicol.

La quimioprolifaxis se utiliza sólo para la oftalmía neonatorum (véase cap. 11), que se encara instilando gotas de solución de nitrato de plata o eritromicina oftálmica.

No se dispone de protección específica. Es posible padecer infecciones repetidas, dado que hay variaciones antigénicas de los gonococos.

Pese a que las especies *N. sicca* y *N. mucosae* son comensales, se las ha identificado en muestras obtenidas de pacientes con infecciones broncopulmonares, osteomielitis, endocarditis y otitis.

Prevención

Educación de la población. Uso de profilácticos. Inmunización.

MORAXELLA CATARRHALIS (NEISSERIA O BRANHAMELLA)

Esta bacteria ha sido excluida de la familia *Neisseriaceae* para ser ubicada en la familia *Moraxellaceae*; se aísla en un 40 a un 50% de los niños de edad escolar y es un comensal de la orofaringe, los ojos y el tracto genital. Puede presentarse con una morfología más cocobacilar. Se diferencia del género *Neisseria* por el DNA y por ciertos ácidos grasos. Da colonias no pigmentadas o de un color ligeramente rosa-grisáceo. No fermenta la glucosa.

Se la considera un patógeno oportunista. Es responsable de algunos casos de bronquitis, neumonía, conjuntivitis y otitis. En las conjuntivitis es más probable aislar *Moraxella lacunata*.

Las bronquitis son cada vez más frecuentes en personas con alteraciones de la función respiratoria o con trastornos respiratorios previos.

M. catarrhalis, que produce β -lactamasa, es sensible a la amoxicilina combinada con ácido clavulánico, a las cefalosporinas, a las tetraciclinas y a la eritromicina.

Resumen

Las especies del género *Neisseria* se caracterizan por ser diplococos arriñonados o ligeramente aplanados, gramnegativos y aerobios que requieren 5% de CO₂. Se trata de microorganismos no esporulados e inmóviles, la mayoría capsulados con fimbrias y bastante poco resistentes al ambiente.

Se los encuentra en las mucosas del ser humano.

Hay dos especies fundamentalmente patógenas: *N. meningitidis*, agente responsable de la meningitis cerebroespinal epidémica entre otras manifestaciones, y *N. gonorrhoeae*, microorganismo causante de una enfermedad venérea; ambas enfermedades son de distribución universal. La primera se adquiere a partir de aerosoles que penetran por las vías aéreas y la segunda, por contacto directo a través de la mucosa.

Para la primera enfermedad hay métodos de prevención específicos (vacuna), aunque con ciertos recaudos. La prevención de la segunda, que puede causar manifestaciones orales, se basa en evitar el contacto sexual o en mantener contactos sexuales protegidos. Esta enfermedad no deja inmunidad.

Estos microorganismos son sensibles a antimicrobianos del tipo de la penicilina, salvo que se trate de cepas productoras de resistencia, en cuyo caso deben utilizarse otros antimicrobianos.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué características tienen las *Neisseria*?
2. ¿Qué especies patógenas conoce y qué enfermedades causan?
3. ¿Cuál es el hábitat de *N. meningitidis*?
4. ¿Qué cuadros clínicos provoca este microorganismo?
5. ¿Cómo se contrae la gonorrea y qué métodos preventivos conoce?
6. ¿Qué métodos de diagnóstico se usan para estas enfermedades?
7. ¿Para cuál de estas dos enfermedades hay prevención específica y cuándo debe aplicarse?
8. ¿Dónde pueden asentarse las manifestaciones debidas a *N. gonorrhoeae*?
9. Describa a *M. catarrhalis* e indique si tiene alguna acción patógena.

BIBLIOGRAFÍA

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 30. *Neisseria* y géneros relacionados. En: Microbiología Médica. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006; pp. 311-323.

Negróni M. Capítulo 22: Enfermedades bacterianas. Tercera parte: *Neisseria* y bacterias relacionadas. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 331-335.

peste blanca. **La incidencia de esta enfermedad ha recrudecido como consecuencia de la pandemia de SIDA y del uso de drogas inmunosupresoras.** En este último caso es posible que la enfermedad se deba a otras especies de micobacterias no tuberculosas.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

El bacilo de la tuberculosis o bacilo de Koch, que es un bacilo delgado, a veces ramificado, con tendencia a disponerse como letras chinas debido a su forma longitudinal de reproducción, tiene un tamaño que oscila entre los 0,2 a los 0,6 μ m de ancho por 1 a 10 μ m de largo, no móvil, no capsulado, no esporulado, ácido-alcohol resistente y aerobio, da lugar a colonias muy plegadas y secas con apariencia de micelio aéreo, lo que le valió el nombre de *Mycobacterium* (*Mykees*, hongo + bacteria) (fig. 23-4).

El tiempo de generación de este microorganismo es muy lento; tarda hasta 20 horas en reproducirse y por eso su desarrollo visible en medios de cultivo demora hasta 8 semanas. Son exigentes en sus requerimientos nutritivos.

El bacilo de la tuberculosis es un **patógeno intracelular** capaz de generar infecciones que transcurren de por vida. Es muy resistente a la desecación, es sensible al calor, al alcohol, al formol y aun más al ácido fénico al 5%, y es bastante resistente al cloro, a otros ácidos, a los álcalis y a los amonios cuaternarios (cuadro 23-9).

Mycobacterium bovis, cuyo hábitat es el ganado, es muy similar y también puede provocar tuberculosis por ingesta en el ser humano.

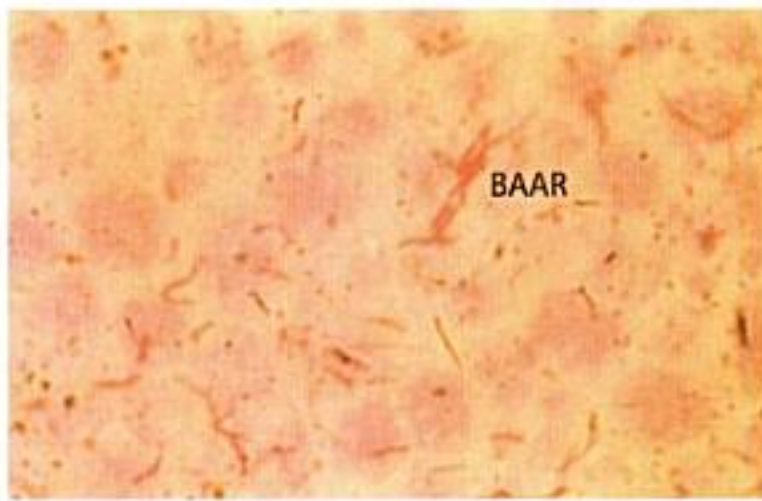


Fig. 23-4. Extendido con BAAR, tinción de Ziehl-Neelsen. Se ven los bacilos agrupados por el factor cuerda, $\times 1.200$. (Gentileza del profesor doctor Ricardo Negroni.)

Estructura

Como ya se ha dicho, la pared celular tiene un **alto contenido de lípidos** (véase cap. 3) de acción específica y significativa en la patogénesis. Las cepas virulentas contienen un **factor cuerda**, que es ácido micólico esterificado con trehalosa. Esto hace que los bacilos se dispongan en forma paralela y adquieran el aspecto de una cuerda, de ahí su nombre. Este factor demuestra ser mortal para el ratón, inhibe la migración de los neutrófilos, induce la producción de TNF y activa la vía alternativa del complemento. Otros glucolípidos inhiben la fusión de los fagolisosomas. Estos bacilos contienen **cera D, ácido micólico con polisacáridos**, unidos al peptidoglucano de la pared celular. También poseen otros **lipopolisacáridos** y **proteínas antigénicas** que se utilizan en una prueba cutánea. **No segregan toxinas.**

TUBERCULOSIS

Fuentes de infección

Las fuentes de infección son los **aerosoles** emitidos por las personas que portan bacilos activos. Éstos eliminan las conocidas "gotitas de Pflügge", que se producen al toser, cantar o estornudar y permanecen en el aire suspendidas; por lo tanto, pueden ser inhaladas por personas en contacto. Esta enfermedad reconoce como único reservorio natural al ser humano.

Vías de penetración

La vía de penetración suele ser **inhalatoria**, pero cuando el agente es *M. bovis* la puerta de entrada es la vía **digestiva**. En otros casos la penetración puede producirse por **vía cutánea**, *M. marinum*.

Factores de riesgo

En general, todas las causas de inmunosupresión. La tríada de alto riesgo que se consideró en un comienzo (malnutrición, alcoholismo y hacinamiento) se ve en la actualidad aumentada con los mendigos "sin techo", los drogadictos, los que residen en penitenciarías, los pacientes HIV positivos, los diabéticos, los que sufren duelos, la depresión, los pacientes internados en geriátricos, los pacientes dializados y los desnutridos por frivolidad (dietas muy restrictivas).

Cuadro 23-9. Características de *M. tuberculosis* y de la enfermedad que causa

Morfología	Bacilar
Afinidad tintorial	Ácido-alcohol resistente
Condiciones de cultivo	Aerobio en medios con proteínas coagulables
Tiempo de generación	Lento (20 horas)
Sensibilidad a los antisépticos	Escasa
Sensibilidad al calor	Buena
Factores de virulencia	Factor cuerda y glucolípidos
Fuentes de infección	Aerosoles de individuos infectados o leche en el caso de <i>M. bovis</i>
Vías de penetración	Aérea o digestiva
Cuadro clínico	Tuberculosis pulmonar y extrapulmonar
Epidemiología	Enfermedad universal
Diagnóstico	Baciloscopia directa, cultivos, pruebas de sensibilidad a antimicrobianos, métodos indirectos
Tratamiento	Con estreptomycin, isoniazida, etambutol, PAS, pirazinamida, rifampicina, capreomicina, etc.

Cuadro clínico

El cuadro clínico característico es la **tuberculosis pulmonar**, aunque existen otras manifestaciones. En la tuberculosis pulmonar hay una extensa gama de cuadros, desde asintomáticos hasta mortales (problema 23-4).

En la forma pulmonar el **complejo primario de inoculación** puede seguir distintos caminos. Cuando el agente etiológico llega a los macrófagos alveolares, pueden dar lugar a los **pequeños tubérculos o corpúsculos blanquecinos** del tamaño de una semilla de mijo, que le han valido el nombre a la enfermedad. Muchas veces los tubérculos quedan en estado quiescente o dormidos, de allí que puedan ser el punto de partida de una **tuberculosis de reactivación** en el adulto; de significación en ancianos e inmunosuprimidos por quimioterápicos o por corticoides. En otros enfermos esos tubérculos evolucionan a lesiones más expandidas con **necrosis caseosa** y posteriormente dan lugar a **calcificaciones**, aparentemente en silencio, o bien, cada tubérculo se asocia al contiguo dando lugar a la formación de **cavernas**. Cuando estas lesiones comprometen algún vaso sanguíneo, se diseminan por esta vía. De ahí surgen las lesiones no pulmonares en el 15% de los pacientes o pueden llegar a la **forma miliar diseminada** y comprometer riñones, pericardio, meninges, huesos (**Mal de Pott**) y articulaciones (fig. 23-5).

Las **formas no pulmonares** que comprometen ganglios linfáticos, especialmente de la región de cuello, se denominan **escrófula**.

En los pacientes HIV positivos, la tuberculosis precede, acompaña la evolución del SIDA o está presente en su fase terminal. En el 10% de los enfermos de SIDA se produce una meningitis tuberculosa.

Epidemiología

La tuberculosis es una enfermedad de **distribución universal**. La Organización Mundial de la Salud considera que un tercio de la población mundial está infectada (2.000 millones de personas) y asegura que cada año se denuncian 10.000.000 de casos nuevos, con una tasa de mortalidad que alcanza a 3.000.000 de casos anuales, especialmente después de la instalación de la pandemia de SIDA. En la Argentina se notifican 11.500 casos cada año.

Se calcula que una persona con tuberculosis pulmonar sin tratamiento efectivo puede llegar a contagiar entre 10 a 15 personas por año.

Inmunidad

La inmunidad no es fácil de demostrar. En realidad, despierta **fenómenos de hipersensibilidad**.

Cuando Koch llevó a cabo su exhaustivo estudio sobre el bacilo de la tuberculosis, comprobó que un cobayo previamente inoculado con este microorganismo no respondía igual ante una segunda inoculación. La primera producía una úlcera que no curaba y se acompañaba de compromiso de los ganglios linfáticos; sin embargo, si se reinoculaba el microorganismo algunas semanas después en este sitio, la úlcera era más pequeña y cicatrizaba. No obstante, los cobayos morían poco después. Esto es lo que se llamó el **fenómeno de Koch**.

Este sabio preparó un cultivo concentrado de bacilos, lo filtró y luego inoculó este filtrado a un cobayo previamente infectado por bacilos tuberculosos vivos. En el lugar de la inoculación del filtrado Koch obtuvo una respuesta alérgica a las 48 horas y la denominó **respuesta de hipersensibilidad retardada al filtrado**, el que se conoció como **tuberculina bruta**. El mismo Koch, en principio,

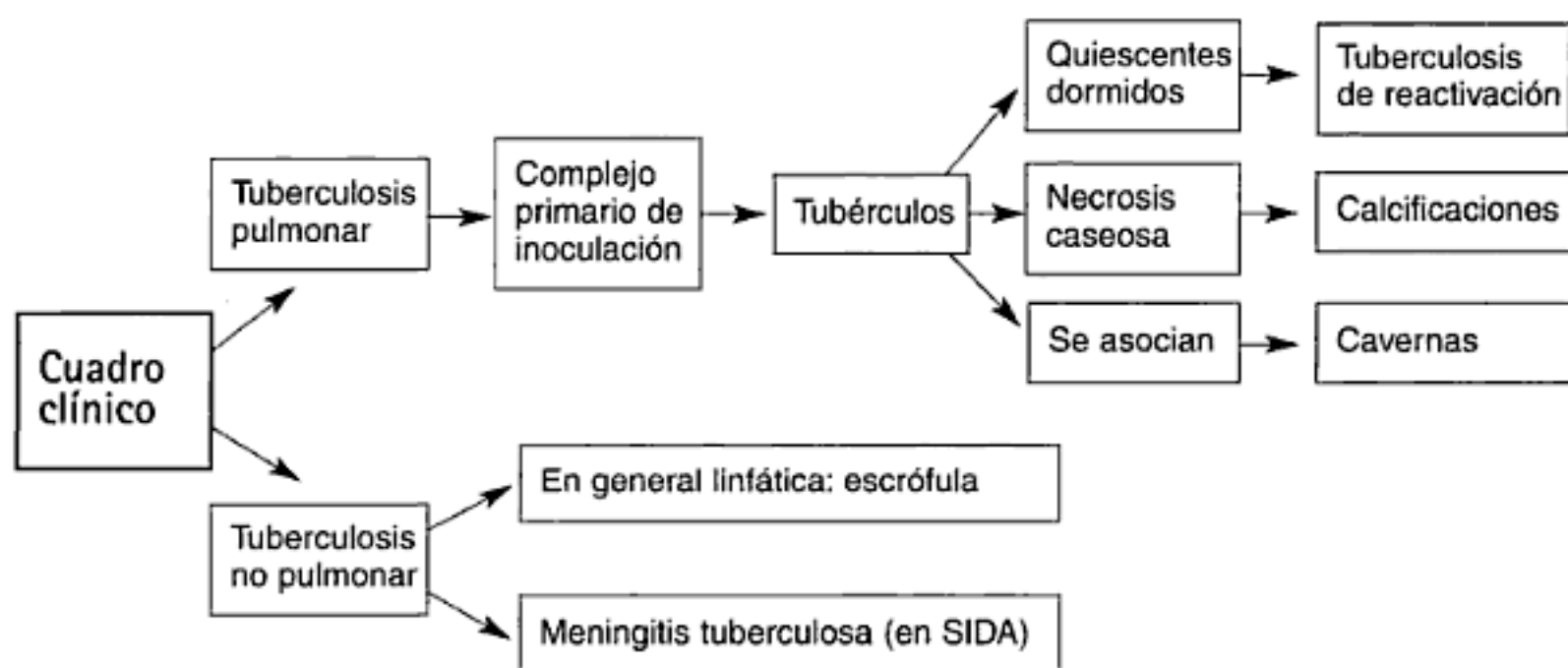


Fig. 23-5. Cuadros clínicos de tuberculosis.

creyó que ese filtrado podía actuar como vacuna. Colegas, poco escrupulosos, aplicaban el filtrado en concentraciones elevadas; el resultado fue catastrófico. Estas experiencias e intereses, para obtener más prestigio para Alemania, que Roberto Koch no apoyaba en absoluto, lo sumieron en gran decepción.

Con posterioridad se purificaron proteínas derivadas de este filtrado que se designaron **PPD** (*purified protein derivative*). Estos antígenos, que son los que se utilizan en la actualidad, se inoculan debidamente dosificados, por vía intradérmica, en la cara interna del antebrazo, **prueba de Mantoux**; los resultados se leen a las 48-72 horas. Esta prueba pone en evidencia si la persona ha estado en contacto con una micobacteria, dado que existe una hipersensibilidad cruzada, y permite diferenciar a los que no han sufrido exposición a esos patógenos. Es importante recalcar que la prueba de Mantoux **no determina enfermedad** (véase cap. 16).

Las lesiones pulmonares son atribuidas, en parte, a fenómenos de hipersensibilidad.

Diagnóstico

Es aconsejable que se obtengan muestras en forma seriada, durante tres días consecutivos.

Casi siempre se trata de muestras de esputo; de acuerdo con el asiento de las manifestaciones, otros materiales son útiles. **No descartar saliva en pacientes HIV positivos**, etcétera.

Para establecer el diagnóstico se recurre a **métodos directos e indirectos**. Los primeros incluyen el examen microscópico y los cultivos. La inoculación experimental en animales de labo-

ratorio no es utilizada actualmente como método diagnóstico, sí para control de cepas, dado que las cepas isoniacida resistentes (CIS) no matan al cobayo. Para la microscopia las técnicas indicadas son: la coloración de Ziehl-Neelsen y la fluorescencia con rodamina-auramina (para descartar muestras). El esputo y las muestras con posibles contaminaciones deben ser tratados para digerir el moco, que enmascara la muestra. Las muestras procesadas, de acuerdo con estándares, y coloreadas se siembran en tubos con medios de cultivo de Löwenstein-Jensen y Stonebrink, por el método de rutina o por el método sencillo y económico (Dra. Texidor y col.), se cultivan a 37 °C durante 8 semanas y se observan dos veces por semana para detectar la aparición de colonias. Las biopsias se trituran previamente con arena estéril y los líquidos paucibacilares: ascítico, cefalorraquídeo, pleural, etc., se tratan de sembrar directamente.

Si bien el cultivo se considera más confiable que el examen microscópico, en la actualidad se está reevaluando la microscopia como un primer diagnóstico rápido y económico que, junto con la clínica, permite iniciar el tratamiento, que, además, tiende a cortar la cadena epidemiológica.

Para los cultivos se utilizan medios selectivos con base de Fracción V de albúmina bovina, suero coagulado o huevo, y colorantes (verde de Malaquita 2%) o antibióticos que actúan para inhibir a las bacterias acompañantes. Además, deben contener fuentes de nitrógeno y de carbono. El crecimiento de los microorganismos insume de 4 a 6 semanas. Recientemente se han incorporado técnicas de lisis-centrifugación (saponina y SPS) para casos de diseminación hematogena. También se dispone de caldos especiales con ácido palmítico

culosis fue la que se controló mediante la pasteurización de la leche (véase cap. 13).

M. bovis suele **ingresar por vía digestiva**; las manifestaciones asientan en la médula ósea, los huesos y los ganglios linfáticos, aunque no puede descartarse la tuberculosis pulmonar. También **puede transmitirse de persona a persona**.

MYCOBACTERIUM ULCERANS

Este microorganismo es muy similar a los anteriores. Sería el tercero en importancia después del *M. tuberculosis* y *M. leprae*. Produce **lesiones cutáneas**, conocida como **úlceras Buruli**, que predomina en regiones de África Central y Este, y Australia. Generalmente, **se transmite por picadura de insectos**. El tratamiento se encara con la resección quirúrgica y la administración de drogas de primera línea.

MICOBACTERIAS PATÓGENAS OPORTUNISTAS Y SAPRÓFITAS

Las **micobacterias atípicas**, o micobacterias no tuberculosas, o Mott en ocasiones causan una enfermedad clasificada como **micobacteriosis**. Son de vida libre y no necesitan de ningún hospedador para cumplir su ciclo evolutivo. Se las aísla fundamentalmente del suelo, del agua (dulce, salobre y aun potable) y de algunas flores. Sin embargo, en ocasiones pueden producir enfermedad pulmonar moderada o grave por su resistencia a los tratamientos convencionales; en ese caso se transmiten de persona a persona.

También se las conoce como **micobacterias anónimas**. De acuerdo con la clasificación de Runyon, se las divide en grupos según la producción de pigmentos en presencia de luz o no, y según la velocidad y la temperatura de desarrollo. Los pigmentos que producen son carotenoides amarillos intensos.

a) **Fotocromógenas**. Generan pigmento en presencia de luz.

- *M. kansasii* provoca infecciones pulmonares y extrapulmonares.
- *M. marinum* tiene su hábitat en el agua y produce lesiones en piel traumatizada (acuaristas, pescaderos, etc., que se lesionan al descamar los pescados). Temperatura de cultivo: medio ambiente (22-27 °C).
- *M. simiae*.
- *M. asiaticum*.

b) **Escotocromógenas**. Generan pigmento en la oscuridad.

- *M. scrofulaceum* tiene su hábitat en el suelo y probablemente cause infecciones asintomáticas. Puede estar asociado con *M. tuberculosis*.
- *M. szulgai*.
- *M. xenopi*.

c) **No fotocromógenas**. No producen pigmento.

- De crecimiento lento: complejo *M. avium*, *M. intracellulare* (complejo MAI), *M. haemophilum* y *M. malmoense* con hábitat en pájaros y otros animales, asociadas con el SIDA. Entre estas bacterias no se ha detectado transmisión de persona a persona.
- De crecimiento rápido: *M. fortuitum*, *M. chelonae* y *M. abscessus*. Se desarrollan en tres días. El primero se aísla de heridas, punciones articulares y de muestras de esputo, especialmente de pacientes con tratamientos prolongados con corticoides.

MICOBACTERIOSIS BUCALES

En la mucosa bucal pueden aparecer lesiones ulcerosas indoloras o algo dolorosas, acompañadas de adenopatía satélite. Estas lesiones, que comprometen la lengua, el paladar y los labios, comienzan



Fig. 23-6. Úlcera tuberculosa en la lengua de un enfermo de SIDA. (Gentileza del profesor doctor Ricardo Negróni.)

La BCG (de bacilo de Calmette y Guerin) es la vacuna utilizada para prevenir ciertos aspectos de esta enfermedad, especialmente la temida meningitis tuberculosa.

Las medidas de control incluyen la vigilancia de las personas de riesgo.

Las micobacterias atípicas se clasifican de acuerdo con la producción o no de pigmento, según en qué condiciones lo segregan y según el tipo de desarrollo que originan. Estas micobacterias tienen su hábitat en el agua y en el suelo, y provocan enfermedad especialmente en individuos inmunosuprimidos.

M. leprae, el agente causal de la lepra, es morfológicamente igual a *M. tuberculosis*, pero no es cultivable. Tiene dos formas clínicas. El diagnóstico de la enfermedad de Hansen se basa en el aspecto clínico y el estudio histopatológico de las lesiones.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué tipo de pared celular tiene el género *Mycobacterium*?
2. ¿Qué características morfológicas y de cultivo posee *M. tuberculosis*?
3. Comente la sensibilidad a los agentes físicos y químicos que posee *M. tuberculosis*.
4. Describa algunas características de la tuberculosis.
5. Enumere los métodos útiles para el diagnóstico de la tuberculosis.
6. ¿Qué diferencia hay entre tuberculina y PPD, y qué indica una prueba positiva para cualquiera de ellas?
7. Mencione factores de riesgo de contraer tuberculosis.
8. ¿Qué medidas de control de la tuberculosis puede citar?
9. ¿Qué es la BCG, por qué se llama así y qué utilidad brinda?
10. ¿Qué hábitat tienen las micobacterias atípicas, cómo se las clasifica y cuál es su importancia médica?
11. ¿Qué produce el *Mycobacterium leprae*?

BIBLIOGRAFÍA

Doménech de Kwint, M del C, Borda Bossana de Texidor et al. Cultivo sencillo y económico para detectar casos de tuberculosis en hospitales generales. Rev. Arg. Tuber. y Enf Pulm y Salud Pública. (Bs. As) 1986; 47,(1):41-46.

Esper RJ, Mazzei JA. Biblioteca de Medicina. Tomo III Neumonología. Buenos Aires: El Ateneo, 1992; pp. 222-227.

González PA, García R, José R, Lobo CO. Tuberculosis. 2ª ed. Caracas: Henry Lugo, 2002.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 29:

Mycobacterium. En: Microbiología Médica. 5ª ed. Madrid: Editorial Elsevier, 2006; pp. 297-310.

Negróni M. Capítulo 22. Enfermedades bacterianas. Cuarta parte: Micobacterias. En: Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 336-341.

Schulze-Robbecke R, Feldmann C, Fischeder R, Janning B, Exner M, Wahl G. Dental units: an environmental study of sources of potentially pathogenic Mycobacteria. Tubercle and Lung Disease, 1995;76:318-23.

Sordelli DO, Cerquetti MC, Catalano M. Bacteriología Médica. Buenos Aires: Ediciones Universitarias, 2004.

ENFERMEDADES BACTERIANAS

5° PARTE

ESPIROQUETAS

Marta Negroni

Contenidos

Características generales. *Treponema*. *Treponema pallidum*, subespecie *pallidum*. Cuadro clínico: sífilis. Otras espiroquetas patógenas. Bejel. Pián o frambesia. Pinta. *Borrelia*.

Objetivos

- Describir las características generales de las espiroquetas.
- Clasificar las espiroquetas patógenas para el hombre.
- Describir las características de *Treponema pallidum*.
- Enumerar los estadios clínicos de la sífilis y los métodos de diagnóstico utilizables en cada uno.
- Identificar otras espiroquetas patógenas.

CARACTERÍSTICAS GENERALES

Las espiroquetas son bacterias con forma de tirabuzón y cuerpo flexible que se encuentran ubicadas dentro de la familia *Spirochaetaceae* del orden de los *Spirochaetales*. Esta familia abarca varios géneros; de ellos, *Treponema* y *Borrelia* tienen gran interés en medicina humana.

Otra familia de este orden es *Leptospiraceae*, que incluye el género *Leptospira*, con patógenos humanos.

Se trata de microorganismos gramnegativos que poseen **endoflagelos**, lo que les confiere gran movilidad.

Muchas espiroquetas se alojan en el tracto digestivo de los animales y otras forman parte de la microbiota oral humana. Se las responsabiliza de intervenir en la enfermedad periodontal (véanse caps. 18 y 20). Hay otros géneros y especies que desencadenan enfermedades, como *Treponema pallidum*, que es el agente causal de la sífilis.

TREPONEMA

Los treponemas son bacterias helicoidales móviles por medio de un sistema de endoflagelos

que se ubican en el espacio periplasmático; son gramnegativas y no esporuladas, poseen extremos afilados, puntiagudos, y miden de 5 a 20 μm de largo por 0,5 μm o menos de diámetro (fig. 23-7).

La división se realiza en forma transversal.

Los treponemas no son cultivables; antes se los consideraba anaerobios, pero cuando se demostró que oxidan la glucosa, se los ubicó entre los microaerófilos. Se estima que el tiempo de generación es de 30 horas. Pueden cultivarse en células epiteliales de conejo.

Estas bacterias se visualizan por microscopía de campo oscuro o fijadas en preparados teñidos por impregnación argéntica.

En cuanto a su constitución, a través de la microscopía electrónica de transmisión es posible diferenciar una lámina o envoltura más externa de glucosaminoglucano. Por dentro existe una capa que contiene peptidoglucano y que es la que recubre a los endoflagelos. Más interiormente se encuentra la membrana celular que envuelve túbulos citoplasmáticos o cuerpo fibrilares.

Los treponemas son bacterias muy sensibles a la desecación y al calor. Puede inactivárselas con compuestos mercuriales, arsenicales y bismuto.

La especie patógena es *Treponema pallidum*, de la que existen cuatro subespecies: *T. pallidum*,

Estas lesiones secundarias son muy contagiosas, porque contienen una gran cantidad de espiroquetas.

También hay compromiso de muchos órganos internos, incluido el sistema nervioso central (SNC).

Después de 4 a 8 semanas desaparecen los síntomas y la enfermedad se mantiene latente durante un año; en ese intervalo puede haber períodos de exacerbación. Aproximadamente la mitad de los casos de sífilis secundaria se reactivan.

En este período también hay alta posibilidad de contagio.

Sífilis terciaria o tardía

Este estadio de la enfermedad se manifiesta entre 5 y 40 años después de la aparición del chancro de inoculación y afecta fundamentalmente el SNC (neurosífilis) y el aparato cardiovascular (sífilis cardiovascular). En este estadio también pueden presentarse lesiones cutáneas de aspecto tumoral que se conocen con el nombre de **goma** y que son granulomas.

La neurosífilis ha aumentado con la epidemia de SIDA.

Sífilis congénita

La sífilis congénita se contrae en forma vertical a través de la placenta, otro punto en común con el SIDA. Puede haber un aborto, pero si se produce el alumbramiento, el recién nacido puede manifestar síntomas de resfrío o una erupción maculopapulosa con descamación de las palmas y las plantas. Suele haber ictericia y compromiso de los huesos, especialmente los huesos nasales (nariz en silla de montar). Pueden manifestarse malformaciones dentales. El tratamiento específico es satisfactorio, pero si no se lleva a cabo, la enfermedad evoluciona en un número variable de años hacia el terciarismo. La sífilis congénita puede evitarse tratando a la madre durante los primeros cuatro meses de la gestación.

Inmunidad

Muy pronto aparecen anticuerpos circulantes inespecíficos. Puede demostrárselos en los 15 días posteriores a la lesión primaria. Más tarde es posible detectar anticuerpos específicos, los que se evidencian durante toda la vida, aunque en títulos bajos.

La inmunidad celular denota una depresión durante los períodos primario y secundario, aunque la desaparición de los síntomas podría ser atribuida a mecanismos celulares.

Diagnóstico

El diagnóstico puede establecerse en forma directa mediante el examen microscópico, instantáneo, del material obtenido del chancro o de las lesiones secundarias. La visualización se logra por microscopía de campo oscuro (MCO) que permite observar la movilidad (véase cap. 31), por la técnica de impregnación argéntica o por inmunofluorescencia. Si hay lesiones localizadas en la cavidad bucal, no deben utilizarse estas técnicas para evitar confusiones con los treponemas comensales.

Lo que se practica habitualmente es el diagnóstico indirecto por pruebas serológicas inespecíficas y específicas.

Pruebas no treponémicas

Estas pruebas detectan anticuerpos del tipo de las inmunoglobulinas G y M o reagentes.

La prueba tipo fue ideada por von Wassermann, que utilizó como antígeno un extracto obtenido de hígados de fetos muertos de sífilis con el que realizó una prueba de fijación del complemento (véase cap. 31-6). Posteriormente se comprobó que el corazón de buey daba los mismos resultados. Se ha llegado a la conclusión de que este antígeno, un difosfatidilglicerol conocido como **cardiolipina** se encuentra en muchos tejidos.

Se han hecho muchas modificaciones de esta prueba original. En la práctica ya no se utilizan técnicas de fijación del complemento que han sido reemplazadas por pruebas de floculación, como las de Kahn, Kleine, Pagniez, Mazzini, etcétera.

Sin embargo, la prueba utilizada con mayor frecuencia es la VDRL, nombre que proviene del Venereal Disease Research Laboratory. Se trata de una prueba muy simple que se realiza en un portaobjeto mezclando una gota de antígeno (cardiolipina en solución salina amortiguada con lecitina y colesterol) y una gota del suero del paciente. Luego se agita mecánicamente y en pocos minutos se obtiene el resultado (se visualizan grumos en distinta cantidad) que se informa como **reactivo, débil reactivo o no reactivo**. Hay una modificación de esta técnica en la cual el antígeno está mezclado con partículas de carbón, lo que permite ver mejor el agregado que producen los flóculos; es la prueba de RPR (del inglés *rapid plasma reagin*).

La especificidad de las pruebas no treponémicas es del 98%. Sin embargo, puede haber falsos positivos y por eso se las considera pruebas tamiz, cuyos resultados deben ser confirmados por medio de técnicas específicas.

Pruebas treponémicas

El promedio de seguridad de estas pruebas oscila entre el 98 y el 99%. Como antígeno se usan *Treponema pallidum* vivos, mantenidos por inoculación en testículo de conejo (cepa Nichols), o bien, una cepa avirulenta, la cepa Reiter, que se mantiene desarrollada en medios artificiales.

Estos antígenos se usan, por ejemplo, en la prueba de inmovilización del *Treponema* (*Treponema pallidum immobilization*: TPI), que es la más específica pero tarda más en positivizarse.

También se los utiliza en la prueba de inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos absorbidos previamente para evitar falsos positivos, ya que comparten antígenos con otros treponemas patógenos y saprófitos. Para evitar esos falsos positivos el anticuerpo, o sea, el suero del enfermo, se une primero con el antígeno inespecífico.

La fluorescencia directa puede utilizarse para demostrar treponemas en las lesiones del paciente; la prueba se denomina FTA-abs (de *fluorescent treponemal antibody absorption*). Son los primeros anticuerpos que se detectan. Estas pruebas no son positivas para los treponemas bucales.

Existen muchas otras pruebas, algunas basadas en técnicas, en especial de aglutinación, inmunoadherencia y microaglutinación MHA-TP (de *microhemagglutination assay-Treponema pallidum*) y enzimoimmunoensayo. No se describen todas debido a la cantidad de modificaciones que se han hecho de cada una de ellas.

Inmunidad

Es muy discutida debido a que una persona curada puede volver a infectarse.

Nociones de tratamiento

El tratamiento se basa en el uso de penicilina durante el tiempo indicado y en niveles adecuados al caso. Si se presume hipersensibilidad a este fármaco, se recurre a la eritromicina o a la tetraciclina, que han demostrado ser útiles. El inconveniente con estas últimas es que no atraviesan bien la placenta.

Durante el tratamiento con penicilina se ha observado en varios pacientes el fenómeno de Jarisch-Herxheimer, que consiste en una intensa erupción cutánea y malestar después de 1 a 2 horas de la inyección con el antimicrobiano y dura entre 12 y 24 horas. Esta reacción se debería a la liberación de una endotoxina por la muerte masiva de las espiroquetas.

Por el momento no se han demostrado cepas resistentes.

Prevención

Todavía no existen vacunas, aunque se está experimentando con una proteína de superficie de *Treponema pallidum* clonada con *Escherichia coli*.

Sólo puede educarse a la población, tratar a la pareja sexual, evitar la prostitución y usar profilácticos, un punto más en común con el SIDA.

OTRAS ESPIROQUETAS PATÓGENAS

Bejel

Es la enfermedad que ocasiona *Treponema pallidum*, subespecie *endemicum*. Como su nombre lo indica, se trata de una sífilis endémica de África, Medio Oriente y, en general, de zonas áridas subtropicales. Esta afección, que afecta especialmente a la población rural de bajo nivel socioeconómico, se transmite de persona a persona y los niños pueden adquirirla por vía oral debido al uso común de vasos u otros utensilios.

Las lesiones primarias y secundarias asientan predominantemente en la mucosa bucal. Las lesiones del terciarismo son diseminadas.

La enfermedad se cura con una sola inyección de penicilina de liberación lenta.

Pián o frambesia

El pián, una enfermedad producida por *Treponema pertenue*, un microorganismo endémico en zonas húmedas tropicales, se adquiere como resultado del contacto directo de superficies cutáneas entre la población rural infantil. La lesión primaria es ulcerosa y puede curar en seis meses. **En algunos enfermos el pián ocasiona lesiones óseas que pueden afectar la mandíbula.**

El pián tardío produce placas cutáneas o úlceras y aumento del grosor de las palmas y las plantas; puede haber gomas, pero la enfermedad nunca afecta el SNC ni el aparato cardiovascular.

Pinta

Esta afección, que es causada por el agente patógeno *Treponema carateum* en zonas áridas y tropicales de América, se contrae por contacto cutáneo. Sólo se observan lesiones en la piel, pero son bastante desfigurantes.

Borrelia

Las borrelias son espiroquetas muy delgadas y con espiras muy amplias; se trata de microorganismos microaerófilos que se tiñen con la coloración

de Giemsa y poseen varios endoflagelos entre la envoltura externa y el espacio periplasmático. Sus requerimientos nutritivos son muy exigentes y, por lo tanto, son difíciles de cultivar.

Las borrelias producen fiebres recurrentes con síntomas gripales que duran una semana, pero se observan recaídas.

B. recurrentis, que causa fiebre recurrente epidémica en los Andes sudamericanos y en África oriental y central, es transmitida por piojos del cuerpo (*Pedicullus humanus*).

Las especies de *Borrelia* causan una fiebre recurrente endémica de distribución universal debida a picaduras de insectos, como las garrapatas; hay

reservorios animales que no pueden erradicarse.

Borrelia burgdorferi y otras especies producen la enfermedad de Lyme; esta enfermedad es de distribución universal, también se debe a picaduras de insectos (garrapatas) y se reconocen reservorios animales. Antiguamente se la conocía como artritis de Lyme; en el 60-70% de los casos hay lesiones cutáneas iniciales que reciben el nombre de eritema migratorio. Ahora se sabe que hay tres especies que la producen y se utilizan métodos serológicos para el diagnóstico. En la última década ha crecido el interés por esta patología.

Las enfermedades provocadas por el género *Borrelia* se curan con antimicrobianos.

Resumen

Las espiroquetas son bacterias gramnegativas con forma de tirabuzón muy difundidas en la naturaleza, de modo que se trata de bacterias saprófitas, aunque también hay especies patógenas. Entre de estas últimas tienen interés *Treponema pallidum* y sus subespecies, y especies del género *Borrelia*.

Treponema pallidum es el agente etiológico de la sífilis, una enfermedad venérea que se contrae por contacto sexual a través de las mucosas, y que es crónica, progresiva y con estadios bien característicos. También puede contraérsela en forma vertical por pasaje a través de la placenta.

Como el microorganismo no ha sido cultivado sino sólo mantenido por inoculación en animales, es poco lo que se sabe acerca de sus factores de virulencia y según el estadio de la enfermedad el diagnóstico se basa en el examen microscópico del material obtenido de las lesiones primarias (chancro) y secundarias (sífilides), o bien, en pruebas serológicas inespecíficas o específicas, también llamadas treponémicas.

A pesar de que hay anticuerpos detectables y de que la aparente curación de las etapas indicaría ciertos fenómenos de inmunidad celular, no hay protección y una persona podría volver a enfermarse.

El tratamiento con penicilina es satisfactorio.

Debe implementarse la prevención con medidas profilácticas.

El bejel es una sífilis endémica en África y Medio Oriente transmisible incluso por el uso compartido de utensilios, pero que cura con una sola aplicación de penicilina de liberación lenta.

El pián, que se debe a otra subespecie, es endémico en zonas húmedas tropicales; en este caso el contagio se produce en forma directa por el tegumento cutáneo, al igual que en el caso de la enfermedad de nombre pinta, que afecta a las personas que residen en zonas áridas y tropicales de América.

Los microorganismos del género *Borrelia* causan fiebres recurrentes cuando son transmitidos por piojos, mientras que otra especie de espiroqueta vehiculizada por otros insectos ocasiona un tipo de artritis.

Preguntas de revisión

1. Mencione las características generales de las espiroquetas.
2. Describa las características estructurales de *T. pallidum*.
3. Enumere las especies y subespecies de *Treponema*, y comente su acción patógena.
4. Mencione el mecanismo de contagio de la sífilis.
5. Describa sucintamente las etapas de la sífilis.
6. Enumere los métodos diagnósticos útiles en cada etapa de la sífilis.
7. Cite algunas similitudes entre la sífilis y el SIDA.
8. Cite otras espiroquetas patógenas para el hombre.

BIBLIOGRAFÍA

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 43: *Treponema*, *Borrelia* y *Leptospira*. En: Microbiología médica, 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006; pp. 427-442.

Negroni M. Capítulo 22: Enfermedades bacterianas. Quinta Parte: Espiroquetas. En: Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 342-347.

ENFERMEDADES BACTERIANAS

6° PARTE

CORYNEBACTERIUM

Marta Negroni

Contenidos

Características generales *Corynebacterium diphtheriae*. Factores de virulencia. Epidemiología. Transmisión. Período de incubación. Cuadro clínico: difteria. Difteria respiratoria. Difteria cutánea.

Objetivos

- Describir las características generales del género.
- Identificar el hábitat de *C. diphtheriae*.
- Enumerar factores de patogenicidad de *C. diphtheriae*.
- Describir los cuadros clínicos que produce este microorganismo.
- Clasificar los métodos que se utilizan para diagnosticar esta enfermedad.
- Sintetizar el tratamiento y prevención de la difteria.

CARACTERÍSTICAS GENERALES

Entre los bacilos grampositivos aerobios no esporulados hay varios géneros de interés médico general; desde el punto de vista odontológico, el género más importante es *Corynebacterium* (*corynei*: en griego significa forma de clava o garrote). Anteriormente este microorganismo se conocía como bacilo de Loeffler.

Las bacterias de este género son bacilos bastante pleomorfos entre los que predominan los que tienen un extremo abultado con forma de clava o maza; están agrupados simulando letras o caracte-

res chinos. Se trata de microorganismos aerobios, no esporulados, inmóviles y carentes de cápsula.

En los preparados coloreados pueden visualizarse gránulos teñidos con mayor intensidad. Éstos son gránulos metacromáticos o gránulos de Babes-Erns (cuadro 23-10). Se conocen en este momento hasta sesenta especies de este género.

Colonizan piel, vía aérea en su parte superior, así como el aparato digestivo y genitourinario del ser humano, pero hay especies con hábitat en plantas y animales.

CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE

El más importante de los microorganismos del género *Corynebacterium* es *Corynebacterium diphtheriae*.

Los otros microorganismos que comparten las características citadas se designan con el nombre de difteroides.

Por la composición de su pared celular este grupo está muy emparentado con *Actinomyces* y con las micobacterias.

C. diphtheriae coloniza la piel y los tractos respiratorio, digestivo y urogenital del ser humano. Es un microorganismo bastante resistente a la deseca-

Cuadro 23-10. Características de *C. diphtheriae* y de la difteria

Morfología	Bacilos pleomorfos agrupados en letras
Afinidad tintorial	Grampositivos con gránulos metacromáticos
Hábitat	Piel, aparatos respiratorio, digestivo y urogenital
Acción patógena	Difteria y difteria de heridas
Factores de patogenicidad	Toxina y otros factores
Mecanismo de transmisión	Directo por aerosoles

ción y puede sobrevivir de semanas a meses en los fómites, en el polvo o en el ambiente.

Se trata del agente etiológico de la **difteria**, término que significa piel de cuero.

Factores de virulencia

El factor de virulencia es la **exotoxina diftérica**, que por ser una exotoxina goza de las propiedades comunes a todas ellas. Esta exotoxina, que es segregada por las cepas de *C. diphtheriae* que se encuentran en estado lisogénico, o sea, infectadas por el fago β , es una proteína en la que se pueden identificar dos fracciones, A y B, y que requiere pequeñas cantidades de hierro para actuar. Primero actúa la fracción B, que es la que permite la adhesión a la célula, y luego entra la fracción A, que es la que posee actividad enzimática.

La exotoxina produce parálisis nerviosa y daño cardíaco, renal y de las glándulas suprarrenales. Este bacilo segrega **hialuronidasa, neuraminidasa**, y posee un antígeno K o "**factor cuerda**" (glucopéptido tóxico), muy semejante al de *Mycobacterium*. Este antígeno podría ser causa de patogenicidad en cepas no toxigénicas. In vitro se ha demostrado que produce muerte celular.

Epidemiología

La difteria es una enfermedad de distribución universal. La inmunización obligatoria ha reducido considerablemente su incidencia, pero no la ha erradicado por completo.

En otros tiempos se trataba de una enfermedad de la infancia, mientras que ahora puede ser una enfermedad de personas de edad avanzada que no han recibido la vacuna (problema 23-6). La fuente de infección para estos sujetos es la portación asintomática de esta bacteria en la nariz o la orofaringe de las personas sanas. Para este microorganismo el único reservorio es el ser humano.

Transmisión

La transmisión se produce en forma directa por medio de aerosoles que permanecen en el ambiente o también por contacto cutáneo (cuadro 23-10).

Período de incubación

La enfermedad comienza una semana después de producido el contacto.

Cuadro clínico: difteria

La difteria es una enfermedad que puede manifestar diversos grados de intensidad según el estado

inmunoalérgico de las personas y es así que puede haber simple portación o producirse un cuadro respiratorio moderado o fulminante e incluso fatal.

Difteria respiratoria

Los síntomas consisten en dolor laríngeo y fiebre, y la característica más importante está dada por las membranas adherentes que recubren las amígdalas, la faringe y el velo del paladar, y pueden extenderse hacia arriba, lo que hace que en algunas circunstancias se encuentre afectada la mucosa nasal. Estas membranas son bastante adherentes y al tratar de retirarlas dejan un fondo sangrante. El microorganismo se multiplica localmente, pero además segrega la exotoxina, que se disemina y ejerce su acción a distancia.

Es común que haya obstrucción respiratoria y miocarditis.

En las zonas tropicales y subtropicales también se observa compromiso nasal, ótico, conjuntival y genital (en la vagina).

Difteria cutánea

En ocasiones la enfermedad afecta un lugar de la piel en el que previamente había habido una picadura de insecto. En estos casos aparece una zona ulcerada cubierta por una membrana. Este cuadro generalmente se ve en personas indigentes o en alcohólicos.

Las cepas no toxigénicas pueden dar origen a otras patologías, como faringitis y endocarditis.

Diagnóstico

Hay varios procedimientos para arribar al diagnóstico y la urgencia del caso hará inclinar la decisión hacia uno u otro. Como en todas las demás enfermedades, el diagnóstico clínico es el que orienta hacia el diagnóstico etiológico.

El examen microscópico que establece una sospecha se hace a partir del material obtenido de las membranas, debidamente extendido y fijado, y luego coloreado con azul de metileno o con la coloración de Gram. Estos preparados muestran bacilos pleomorfos con una agrupación característica. Como ya se ha dicho, éste es un diagnóstico de sospecha que no es concluyente debido a la gran variedad de bacilos semejantes.

El cultivo del material extraído del istmo de las fauces debe sembrarse en medios selectivos. Para tal fin se recomiendan el agar suero con telurito, el medio de Loeffler o el medio de Manzullo. Este último favorece la posibilidad de establecer un

resultado en seis horas. En los medios con telurito se desarrollan colonias negruzcas; en el medio de Loeffler es posible diferenciar tres tipos de variedades de *C. diphtheriae*: *gravis*, que origina colonias grandes y grises; *intermedius*, que da lugar a colonias pequeñas, planas y grises; y *mitis*, caracterizado por colonias pequeñas, convexas y negras. Por la morfología de las colonias y reacciones bioquímicas, se ha agregado otro biotipo que es el *bel-fanti*. Si estas colonias se trasplantan a agar sangre, pueden producir hemólisis.

Estas variedades no tienen relación con la virulencia; sólo puede pensarse en un interés epidemiológico.

La prueba de toxicidad, que es la más concluyente para llegar al diagnóstico definitivo o de certeza, se realiza por métodos serológicos.

Existen distintos tipos de reacciones; una de ellas es la conocida como test de Elek, es una prueba de inmunodifusión (véase cap. 31-6) con toxina diftérica y el suero del paciente que permite obtener el resultado en 48 horas. Hay otras técnicas serológicas; también se han utilizado con buenos resultados la inoculación de cobayos y el cultivo de tejidos.

Nociones de tratamiento

El tratamiento debe iniciarse lo antes posible, pues es urgente neutralizar la toxina. Para ello se recurre a la antitoxina específica.

El microorganismo puede ser inhibido con penicilina o eritromicina, fármacos que sólo impiden la multiplicación de la bacteria, pero no curan la enfermedad, porque no contrarrestan la acción de la toxina. Por lo tanto, el tratamiento más eficaz consiste en combinar un antimicrobiano y el tratamiento antitóxico, además de la indicación de reposo.

Prevención

La vacuna específica preparada con toxoide (véase cap. 30) estimula la producción de anticuerpos contra la fracción B, que es la única que puede neutralizar.

Existe una prueba conocida como prueba de Schick que sirve para determinar si una persona posee anticuerpos circulantes neutralizantes de *C. diphtheriae*. Para ello se inyecta toxina diftérica por vía intradérmica; si no hay reacción, es porque la persona tiene anticuerpos. Esta prueba ha caído en desuso.

Otra medida preventiva consiste en el aislamiento de los casos declarados.

Resumen

Los bacilos del género *Corynebacterium* son bacilos grampositivos, pleomorfos, aerobios e inmóviles, no esporulados y no capsulados, que agrupan especies patógenas y no patógenas.

La especie patógena, *C. diphtheriae*, sólo es capaz de producir enfermedad si se encuentra en estado lisogénico, lo que hace que segregue una potente exotoxina. Ésta origina la difteria, que además de lesiones faríngeas se acompaña de manifestaciones nerviosas, cardíacas y renales, por lo que si no se trata a tiempo produce la muerte. También puede infectar heridas.

El diagnóstico directo y por cultivos debe ser confirmado por medio de la detección de la toxina.

La difteria se contrae por aerosoles, mientras que las heridas se infectan por contacto cutáneo.

El tratamiento con antitoxina y antimicrobianos puede ser exitoso.

Lo ideal sería que toda la población estuviera protegida con la vacuna preparada con el toxoide (cap. 30).

Preguntas de revisión

1. ¿Qué características generales tiene el género *Corynebacterium*?
2. ¿Cuáles son las características generales de *Corynebacterium diphtheriae*?
3. ¿Con qué otros microorganismos se encuentran emparentados los del género *Corynebacterium* y por qué?
4. ¿Cuál es el hábitat de *C. diphtheriae*?
5. ¿Qué características posee la exotoxina diftérica?
6. ¿Qué otros factores de virulencia posee *C. diphtheriae*?

7. ¿Por qué podría contraerse la difteria?
8. ¿Qué cuadros clínicos son atribuibles a la acción de esta bacteria?
9. ¿Cuáles son los métodos para el diagnóstico de la difteria y cuál es más concluyente?
10. ¿Cuál es la forma de prevención útil para evitar la difteria?

BIBLIOGRAFÍA

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 27: *Corynebacterium* y otros bacilos gram positivos. En: Microbiología médica. 5ª ed. Madrid: Elsevier, 2006; pp. 279-286.

Negróni M. Capítulo 22: Enfermedades bacterianas. Sexta

Parte: *Corynebacterium*. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 347-350.

Volk WA, Gebhardt BM, Hammarskjöld ML, Kadner RJ. *Corynebacterium* and *Listeria*. En: Essentials of medical microbiology. 5ª ed. New York: Lippincott-Raven Publishers, 1996; pp. 421-28.

ENFERMEDADES BACTERIANAS

7º PARTE

BACILOS GRAMPOSITIVOS ESPORULADOS

Marta Negroni

Contenidos

Bacillus. Características generales del género. Factores de patogenicidad. Cuadro clínico. Diagnóstico. Epidemiología. Nociones de tratamiento. Prevención. *Bacillus cereus*. *Clostridium*. Características generales del género. *Clostridium botulinum*. Fuente de la intoxicación. Clínica. Diagnóstico. Epidemiología. Nociones de tratamiento. Prevención. Utilidad de las toxinas botulínicas. *Clostridium tetani*. Forma infectante. Vía de penetración. Hábitat. Patogenia. Estructura antigénica. Incubación. Cuadro clínico. Diagnóstico. Tratamiento. Prevención. Grupo *Clostridium perfringens*. Patogenia. Transmisión. Clínica. Diagnóstico. Nociones de tratamiento. Prevención.

Objetivos

- Describir las características generales del género.
- Enumerar los géneros y las especies patógenas.
- Describir la acción patógena de *Bacillus anthracis*.
- Identificar los factores de virulencia de los clostridios.
- Describir los cuadros clínicos que pueden causar los distintos clostridios.
- Enumerar las medidas preventivas oportunas para cada esporulado.

INTRODUCCIÓN

En este grupo se ubican dos géneros de bacterias esporuladas. El género *Bacillus* agrupa bacilos aerobios con esporas. El otro es el género *Clostridium*, que se caracteriza por ser anaerobio y poseer esporas deformantes o no deformantes.

Se los encuentra en gran profusión en la naturaleza. Por medio de sus esporas logran sobrevivir muchos años aun en condiciones ambientales adversas.

Algunas especies de ambos géneros pueden provocar patología humana.

BACILLUS

Características generales del género

Se trata de bacilos grandes, delgados y largos, que como ya se dijo son grampositivos y aerobios;

tienen forma cuadrangular debido a que sus extremos se presentan como cortados. Están dispuestos en estreptobacilos. Poseen una cápsula de ácido glutámico.

Casi todos ellos son saprófitos y, como tales, se los encuentra en el suelo, el agua y los vegetales.

Merced a la utilización de técnicas de DNA, se han dividido en varios géneros que agrupan hasta setenta especies.

Como se trata en el capítulo 13 y se verá en el capítulo 31, algunas especies tienen una utilidad práctica, dado que se las utiliza para controlar ciclos de esterilización.

La especie patógena por excelencia es *Bacillus anthracis*, que provoca el carbunco.

Hace pocos años se temió una guerra bacteriológica por este microorganismo, cuyas esporas fueron enviadas por correo en Estados Unidos de Norte América.

características: son bacilos grandes, a veces filamentosos, grampositivos, de extremos redondeados, dotados de flagelos peritricos, por lo que son móviles; poseen esporas subterminales o terminales y son anaerobios, son de fácil cultivo; tienen su hábitat en el suelo, el agua, las aguas servidas, y el intestino de muchos animales y del hombre, razón por la cual también se los aísla de deyecciones. Casi todos ellos se comportan como meros saprófitos.

Las técnicas de biología molecular han demostrado que deberían tenerse en cuenta otras diferencias, lo que implicaría una modificación en su ubicación taxonómica.

Los patógenos reconocidos son *C. botulinum*, *C. tetani*, el grupo *C. perfringens* y *C. difficile*. No se trata de gérmenes invasores, sino que deben su patogenicidad a la secreción de toxinas.

CLOSTRIDIUM BOTULINUM

Como su nombre lo indica, es el agente productor del botulismo.

Las descripciones más tempranas de esta patología fue debido a la ingestión de salchichas, de allí el nombre de la especie (*botulus*: salchicha).

El hábitat de esta bacteria es el suelo y los vegetales.

Las características generales responden a las enunciadas para el género. Como casi todos los microorganismos esporulados, resiste temperaturas de 100 °C durante 3 a 5 horas.

Si el bacilo está infectado por un bacteriófago, segrega una toxina potente y muy letal. Se han identificado ocho variedades antigénicas de esta toxina, que se designan con letras del alfabeto (de la A a la G). De acuerdo con esta y otras características, se han establecido cuatro grupos de bacilo botulínico, a saber, *C. botulinum* (*C. b*) grupo I, *C. b* grupo II, *C. b* grupo III y *C. b* grupo

IV. Los más relacionados con intoxicaciones humanas son los grupos I y II.

La toxina ha sido muy estudiada; como se trata de una **exotoxina, es de constitución proteica con capacidad neurotóxica**. Como efecto final, inhibe la liberación de acetilcolina en las sinapsis y las uniones neuromusculares. La manifestación clínica es una **parálisis flácida** que conduce a la muerte por **parálisis respiratoria y daño cardíaco**.

Los bacilos que poseen la variedad antigénica C han sido muy estudiados. Se ha comprobado que la toxina tiene dos fracciones, C1 y C2. C1 evita la liberación de acetilcolina en las uniones mio-neuronales. C2 es un complejo binario, cuyos componentes separados son I y II. El II se une a un receptor celular y facilita la entrada del I.

Además, se ha demostrado que los tipo C y D segregan otra exoenzima tóxica, la C3, que todavía no se conoce muy bien.

Este microorganismo causa una **intoxicación**, no una infección (cuadro 23-11).

Fuente de la intoxicación

La fuente de la intoxicación está representada por los alimentos que contienen esporas o sólo la toxina, generalmente envasados o conservados.

Clínica

Los síntomas aparecen término medio entre 18 y 24 horas después de la ingestión de un alimento que contiene esporas o la toxina y son síntomas severos que conducen a la muerte en pocas horas. Previamente, entre otros síntomas hay una importante sequedad de boca (por falta de salivación) y odinofagia (deglución dolorosa).

En los niños el botulismo puede ser una de las causas del síndrome de muerte súbita. Se cree que en estos casos el alimento implicado es la miel contaminada con esporas.

Cuadro 23-11. Cuadro comparativo de los clostridios (resumen)

Especie	Hábitat	Vía de penetración	Micro-organismo	Factor de virulencia	Cuadro clínico	Diagnóstico	Tratamiento	Prevención
<i>C. botulinum</i>	Suelo, excretas	Digestiva	Tóxico	Toxinas	Botulismo	Detección de la toxina	Antitoxina polivalente	Hervir los alimentos
<i>C. tetani</i>	Ídem	Traumatismos	Tóxico, infectante	Toxina	Tétanos	Ídem	Cirugía, penicilina e inmunización	Inmunización activa y pasiva
<i>C. perfringens</i>	Ídem y vagina	Exógena, endógena	Tóxico, infectante	Toxinas	Gangrena gaseosa	Directo, indirecto, detección de la toxina	Cirugía, antimicrobiano, antitoxina, oxígeno hiperbárico	Buena esterilización, antisepsia

gos, fibroblastos y plaquetas. La clásica **neurotoxina o tetanospasmina**, que indudablemente es la más importante, se libera por lisis celular y en ese momento se divide en las dos fracciones.

Recientemente, se ha sabido que estos microorganismos producen **otra toxina no espasmogénica**, cuyo mecanismo todavía no se conoce bien.

Incubación

La incubación puede extenderse entre 4 y 10 días.

Cuadro clínico

Se observan contracciones musculares y convulsiones, a veces acompañadas de dolor. El estado mental del paciente no sufre modificaciones.

Los odontólogos deben estar bien atentos en cuanto a estos cuadros, porque a veces el primer músculo que se contrae es el masetero, lo que ocasiona **trismus**, y existe la posibilidad de que el paciente consulte primero a este profesional. En consecuencia, no deben investigarse sólo causas locales de este trastorno.

Otro síntoma muy característico es la **risa sardónica** por contracción del músculo facial.

En estadios más avanzados hay contracciones de casi todos los músculos y el paciente puede arquearse hacia atrás (**opistótonos**).

Hay contracciones involuntarias de los músculos, sobre todo con estímulos como un pequeño ruido o apenas un roce. A pesar de esto el paciente permanece consciente hasta que sobreviene la muerte.

Puede haber tétanos neonatal por la infección del cordón umbilical.

Diagnóstico

El diagnóstico se establece sobre la base del cuadro clínico y del antecedente de un traumatismo. Hace no muchos años, en Buenos Aires hubo un brote que arrojó varios casos fatales; uno de estos pacientes había acudido a consultar a un odontólogo en primer término en busca de un diagnóstico debido a la dificultad para abrir la boca; dicho brote se debió a inyecciones, lo que significa que en ocasiones el traumatismo puede pasar casi inadvertido.

Puede obtenerse material de las heridas para cultivar, pero sólo es posible arribar al diagnóstico en el 30% de los casos.

Lo más específico y rápido consiste en **detectar la toxina**.

Tratamiento

La primera maniobra terapéutica consiste en efectuar la limpieza quirúrgica de la herida; puede recurrirse a aplicaciones de oxígeno hiperbárico.

Si el paciente está vacunado, es conveniente aplicar un refuerzo de la vacunación. Si no lo está o el plazo de protección de la vacuna ha expirado, debe administrarse antitoxina y toxoide. Pueden adoptarse las mismas medidas, salvo la aplicación de oxígeno hiperbárico, cuando existe una alta presunción de que una herida puede ser causa de esta enfermedad.

Prevención

La prevención es la mejor arma y consiste en la inmunización activa con toxoide (véase cap. 30).

GRUPO *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

Como los demás clostridios, *C. perfringens* es un bacilo grampositivo, rectangular y, a diferencia de otros clostridios es inmóvil, por lo general capsulado y rara vez esporulado. Tiene el mismo hábitat que los demás clostridios, pero además ha sido hallado en la vagina del 5% de las mujeres, donde permanece como comensal hasta que se producen cambios en las condiciones locales.

C. perfringens es el agente de la gangrena gaseosa y de la mionecrosis, aunque con menor frecuencia también produce una intoxicación alimentaria (cuadro 23-11).

Clostridium perfringens y los microorganismos de su grupo **producen por lo menos doce tipos de toxinas**. La toxina o toxina A es una lecitinasa que actúa sobre las membranas celulares de las células de todo el organismo, las toxinas β y Σ aumentan la permeabilidad vascular y son necrosantes, y la toxina teta produce un efecto hemolítico y necrosante; inicia su acción cuando se une al colesterol de las membranas celulares. Hay otras toxinas menores, como la toxina K, que es una colagenasa, que favorece la difusión. La toxina iota es una proteína enterotóxica identificada con frecuencia en carnes y que produce diarrea. La toxina μ es una leucocidina, actúa sobre glóbulos blancos y el corazón, y es altamente letal.

Además de todas estas toxinas, se ha encontrado que estos microorganismos también segregan hialuronidasa, fibrinolisisina, DNasa y neuraminidasa.

Patogenia

C. perfringens y los microorganismos de su grupo son muy fermentadores; fermentan hidratos

comial por síntesis de una endotoxina que favorece la liberación de TNF- α e IL-1. En algunos casos las manifestaciones son mortales.

Este microorganismo, que no vive en estado libre en la naturaleza, posee hasta mil serotipos diferentes y se caracteriza por fermentar la lactosa con producción de ácidos.

Las gastroenteritis causadas por este germen ocasionan cuadros que varían en relación con la especie que los produce y así hay gastroenteritis enterotóxica, enterohemorrágica, enteroinvasora, enteropatógena y enteroagregativa (se aísla con cierta frecuencia en enfermos con septicemia).

SALMONELLA

Su clasificación taxonómica es muy controvertida. Se citan hasta dos mil doscientas especies, aunque hay quienes sostienen que no son especies sino serovariedades. A diferencia de *Echerichia*, las salmonelas no fermentan la lactosa.

Se las encuentra en todos los animales. Los serotipos *typhi* y *paratyphi* sólo habitan en seres humanos. Hay portadores asintomáticos.

El origen de la infección humana, que es más común en personas jóvenes, se debe a la ingestión de huevos, productos lácteos o agua.

El reservorio de este género es el intestino de muchas aves, reptiles, animales de granja y hasta tortugas que se tienen como mascotas hogareñas.

La salmonelosis es la afección más comúnmente transmitida por alimentos.

Entre los cuadros atribuibles a *Salmonella* figuran enteritis y septicemias (éstas son más comunes en niños, gerontes o pacientes con SIDA). Las salmonelas también causan fiebre entérica o fiebre tifoidea. *S. typhi* provoca colonización asintomática en la vesícula biliar, desde donde se transforma en fuente de infección para otros seres humanos.

El diagnóstico de los cuadros debidos a este microorganismo se establece por métodos bioquímicos y serológicos.

SHIGELLA

Este microorganismo, que es inmóvil y fermenta la lactosa sin producir ácido, abarca cuatro especies con dos serotipos cada una: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* (común en países subdesarrollados), *Shigella boydii* y *Shigella sonnei* (más aislada en países desarrollados). Se han establecido más de cuarenta y cinco serogrupos.

La *S. dysenteriae* segrega una exotoxina, **toxina sig**, que provoca daño en el epitelio intestinal y también es causa de insuficiencia renal.

Hay transmisión fecal-oral o por agua. En esta última el microorganismo puede sobrevivir hasta seis meses.

Cuadro clínico

El cuadro clínico, que se denomina shigellosis o disentería bacilar, se acompaña de diarrea, dolor abdominal, y heces sanguinolentas y purulentas; se lo conoce como diarrea del viajero. *Shigella* no provoca septicemia.

Se la considera una enfermedad pediátrica por la frecuencia con que afecta a menores de 15 años.

YERSINIA

Este género incluye once especies, pero los patógenos humanos más frecuentes son *Yersinia pestis*, *Y. pseudotuberculosis* y *Y. enterocolitica*, con al menos seis biogrupos.

Y. pestis causó estragos en la humanidad en el siglo XIV. La enfermedad debida a esta bacteria se conocía como la "muerte negra" y todavía hoy hay brotes epidémicos en Asia y África.

Se reconocen dos tipos de peste: la urbana y la selvática. Esta última sigue persistiendo en muchos países desarrollados. La urbana es mantenida por las ratas y es transmitida al hombre a partir de ellas por insectos vectores (pulgas). Las ardillas también actúan como reservorios, pero como son animales graciosos no se las combate como a las ratas.

Otra forma de adquirir la enfermedad consiste en manipular tejidos animales infectados o ingerirlos.

Da origen a dos formas infecciosas: la **peste bubónica** y la **peste neumónica**, ambas con alta tasa de mortalidad.

Yersinia pseudotuberculosis causa pseudoapendicitis, septicemia, un tipo de artritis y osteomielitis.

A diferencia de otras enterobacterias, *Yersinia enterocolitica* provoca enterocolitis, durante los meses de frío en países escandinavos.

KLEBSIELLA PNEUMONIAE

K. pneumoniae, como su nombre de especie lo indica, acusa un tipo de neumonía lobular asociada con cavidades pulmonares y expectoración hemoptoica. Este microorganismo también infecta las vías urinarias, contamina quemaduras, se instala en diversos tejidos blandos y es causa de septicemias, sobre todo en los niños.

Existen otras especies de *Klebsiella*, que conducen a otros cuadros clínicos.

Resumen

Las enterobacterias son bacterias gramnegativas, en algunos casos móviles, que habitan en el tracto intestinal.

Su clasificación todavía es objeto de controversias. Las que se identifican con mayor frecuencia son:

E. coli, que puede provocar distintos cuadros, desde diarrea a sepsis, meningitis neonatal e infecciones urinarias.

Salmonella, que comprende varias especies y es responsable de la disentería bacilar, entre otras patologías.

Yersinia, que incluye al menos tres especies patógenas, entre las que se encuentra el agente de la peste, enfermedad que todavía se presenta en algunos países.

El género *Vibrio* (*V. cholerae*) no encuadra en las enterobacterias, pero provoca el cólera, una patología intestinal. Las toxinas son responsables de la diarrea profusa y la intensa pérdida de electrólitos. Es primordial encarar su prevención.

P. aeruginosa, uno de los gérmenes conocidos como hospitalarios, ocasiona todo tipo de infecciones a causa de sus diversos factores de virulencia. Es un microorganismo muy resistente a la mayoría de los antimicrobianos. Es fácilmente identificable por el pigmento que segrega.

Preguntas de revisión

1. Describa las características generales de las enterobacterias.
2. Mencione los géneros asociados con mayor frecuencia con patología humana.
3. Dé ejemplos de los cuadros clínicos que ocasionan esos géneros.
4. ¿Cuándo es más temida la presencia?
5. ¿En qué tipo de enfermos causan más problemas estas bacterias?
6. ¿Qué enfermedad puede provocar *Y. pestis* y cómo puede contraerse?
7. ¿Qué fuentes de infección de las enterobacterias puede citar?
8. Describa la acción patógena de *V. cholerae* y a qué se debe esa acción?
9. ¿Qué características puede citar de *P. aeruginosa*?
10. ¿Qué importancia médica tiene esa bacteria?
11. Como profesional de la salud, ¿qué medidas aconsejaría para prevenir esas enfermedades?

Problema 23-1

Se presenta para consulta en una sala de pediatría una señora, con su hijo de 6 años. El niño tiene hipertermia de 38 °C, dolor de cabeza; en el examen clínico se revisa primero la boca para ver las amígdalas y se observa además de una faringitis, la lengua muy enrojecida con el aspecto de una frambuesa; también se percibe que alrededor de la boca hay una marcada palidez.

Preguntas:

1. ¿Cuál sería el primer diagnóstico de sospecha?
2. ¿Pueden hacerse pruebas microbiológicas para establecer la etiología de la enfermedad?
3. ¿Cuál es el agente etiológico y qué aspecto tiene?
4. ¿A qué se debe la erupción cutánea?
5. ¿Pueden quedar secuelas de esta enfermedad?

Problema 23-5

Consulta un paciente del sexo masculino de 47 años de edad, comerciante, por malestar que siente tipo gripal, ligera hipertermia, además, tiene una erupción cutánea. En el examen clínico se aprecian algunos ganglios aumentados de volumen, pero ninguna otra alteración. En el interrogatorio informa que hace cinco o seis meses estuvo en viaje de negocios y en uno de los países en el que estuvo una semana mantuvo relaciones sexuales, sin protección, con una joven muy atractiva, pero de la cual no tenía más datos. Aclara que al regresar tuvo algo parecido a una úlcera en el pene, pero que no era dolorosa y que desapareció sin tratamiento. Se le solicitan exámenes de sangre y se obtiene una muestra de las lesiones cutáneas. Los exámenes de sangre no demostraron mayores alteraciones.

Preguntas:

1. ¿Cuál podría ser un diagnóstico de sospecha?
2. Con el material que se obtuvo, ¿cómo lo examinaría?
3. ¿Podría solicitar otros estudios?
4. ¿Cómo se llama este estado de la enfermedad y el que tuvo antes?
5. Si se confirma el diagnóstico, ¿hay peligro de que el enfermo siga contagiando?
6. ¿Cuál es la droga de elección para esta enfermedad?

Problema 23-6

Se presenta en la sala de guardia de un hospital un paciente de 62 años, que vivió muchos años en un pueblito del interior de la Argentina y hace seis años que reside en la Capital. Nunca recibió atención médica de ningún tipo ni fue vacunado contra ninguna enfermedad. Se queja de dolor intenso de garganta, dificultad para respirar, tiene una temperatura corporal de 38,9 °C; al examinar la cavidad bucal se perciben sobre las amígdalas una zona blanquecina que se comprueba fuertemente adherida a la mucosa; con dificultad se desprende y deja un fondo sangrante. Se remiten al laboratorio de guardia. En el laboratorio hacen extendidos con parte de la muestra que colorean con azul de metileno. Se evidencian elementos bacilares, dilatados en un extremo, agrupados de diversa forma, algunos con zonas más intensamente teñidas.

Preguntas:

1. ¿Cuál es el diagnóstico probable?
2. ¿Cuál es el agente etiológico de esta enfermedad?
3. ¿Cómo se llaman las zonas más intensamente teñidas en los bacilos?
4. ¿Cuál pudo haber sido la fuente de infección?
5. ¿Es un microorganismo que crece en medios de cultivo? ¿Dónde lo sembraría?
6. ¿Cuál sería el tratamiento de elección?
7. ¿Podría haberse evitado esta enfermedad?

En algunos medios y en las lesiones, *Candida albicans* puede presentarse con el aspecto pseudofilamentoso.

En determinados cultivos este hongo produce **clamidosporas** (véase cap. 9), que junto con el aspecto del tubo germinativo y las pseudohifas o pseudofilamentos (fig. 24-1) son elementos útiles para tipificar la especie. También puede llegarse a esta determinación con el auxilio de varias pruebas bioquímicas, como por ejemplo asimilación de fuentes de carbono, asimilación de fuentes de nitrógeno, pruebas de fermentación y otras más. Hace unos años han aparecido en el comercio medios de cultivo diferenciales, como el CHRO-Magar®, para hacer una primera tipificación. También existen avíos para efectuar las pruebas bioquímicas en forma más simplificada.

Los laboratorios con mayor equipamiento están procediendo a realizar la cariotipificación, aunque estas técnicas no son de utilidad diagnóstica en la rutina diaria, sino que son aconsejables con fines epidemiológicos o de investigación.

En los últimos años se ha incorporado una técnica de cultivo en agar leche con Tween 80, que permite identificar *Candida albicans* por medio de la producción de tubo germinativo, pseudofilamentos y clamidosporos en sólo 48 horas.

CULTIVOS

Candida se desarrolla con gran facilidad en medios artificiales de cultivo. En 24 horas ya pueden aparecer colonias blancas de consistencia pastosa o cremosas y brillantes, pero el máximo desarrollo se obtiene a las 48 o 72 horas. La incubación se hace tanto a 25 como a 37 °C, incluso en con-



Fig. 24-1. Pseudofilamento de *Candida* por microscopía electrónica de barrido, $\times 4.500$.

diciones de anaerobiosis, aunque en este caso el crecimiento es más pobre. Los medios azucarados proporcionan buenos nutrientes para el crecimiento de estos hongos.

Candida albicans es un **microorganismo acidófilo y acidógeno**. El agregado de ácidos a los medios de cultivo ha permitido utilizarlos como medios selectivos.

FACTORES DE VIRULENCIA

Además de su facilidad para crecer y multiplicarse, el mayor factor de virulencia de este microorganismo es la **capacidad de adherirse** tanto a células del hospedador como a otros microorganismos e incluso a materiales inertes.

La adherencia se debe a características químicas y estructurales de la pared celular. El compuesto químico que permite la unión es una **manoproteína**, mientras que la estructura es una **capa fibrilar** que recubre la pared. También se han descrito **otras moléculas de adhesión**.

La formación de **pseudohifas** y la rapidez con que puede variar su morfología son características de agresividad.

In vitro se han evidenciado **otros factores**, entre ellos interferencia sobre la fagocitosis y secreción de productos tóxicos (metanol, candidoxinas, citocinas).

Sherwood demostró que *Candida* puede emitir largos filamentos capaces de invadir hacia la profundidad de los tejidos si en esas zonas hay mayor cantidad de nutrientes. Este fenómeno se conoce como **tigmotropismo**.

Sensibilidad a agentes físicos y químicos

Este hongo, que resiste **un poco más que las bacterias en estado vegetativo** la acción de algunos antisépticos, es sensible a los compuestos yodados y a otros halógenos, como por ejemplo el cloro. Las soluciones que contienen borato de sodio suelen ser eficaces para tratar ciertas localizaciones (dermatitis del pañal). *Candida albicans* resiste bastante en el ambiente y una forma de conservar los cultivos es en agua destilada, donde la supervivencia puede alcanzar los dos años.

FUENTES DE INFECCIÓN

La mayor parte de las infecciones por *Candida* son **endógenas**, debido al muy alto porcentaje de portación asintomática del hongo en la boca, en el intestino y, ocasionalmente, en los pliegues cutáneos.

En la mucosa no adherida se observan cuadros atróficos y otros pseudomembranosos, hiperplásicos y leucoplasiformes.

Las pseudomembranas, que hace algunos años se consideraban el único aspecto atribuible a este hongo, están constituidas por células muertas, restos de alimentos, leucocitos, células epiteliales descamadas, fibrina, levaduras y pseudofilamentos. Al desprenderlas dejan un fondo sanguinolento, cosa que no ocurre con las leucoplasiformes.

Este aspecto es el que dio origen al término "muguet" con que se conocía esta afección, dado que se comparó con esa flor. Con estas características es dable encontrarlo en niños recién nacidos; algunos dicen: tiene "leche cuajada" en la boca.

En la lengua la candidosis da lugar a distintos tipos de glositis, como por ejemplo atrófica, saburral (fig. 24-3, problema 23-1), lengua negra pilosa, etcétera.

En los labios se desencadena una queilitis en la zona semimucosa con características descamativa, costrosa y otras. En las comisuras las queilitis angulares suelen acompañar otros cuadros (fig. 24-3), generalmente, se caracterizan por la aparición de fisuras rodeadas de una zona ligeramente elevada y blanca.

El paladar es asiento frecuente de un eritema resultante de la estomatitis protética.

En casos de periimplantitis se ha comprobado la formación de abscesos. Si hay pérdida de los tejidos blandos, o bien, por vía sanguínea, la enfermedad compromete el hueso y genera osteomielitis.

La candidosis bucal es una de las enfermedades asociadas con el SIDA (véase cap. 25).

La sintomatología es irregular; el paciente puede permanecer asintomático, en cuyo caso suele observarla algún profesional, y hay otros casos que se acompañan de ciertos padecimientos: ardor, sensación de quemazón, dolor, pérdida del gusto o alteración con sabor metálico (disgeusia), sequedad y dificultad para alimentarse.



Fig. 24-3. Glositis saburral con el centro atrófico y queilitis angulares en un paciente HIV-positivo.

Puede haber una adenopatía satélite o no.

La evolución puede ser aguda o crónica.

La candidiasis cutaneomucosa, que afecta a personas con defectos de la inmunidad mediada por células, asienta en la piel, las uñas y las mucosas, pero no pertenece al terreno del estomatólogo, porque se trata de una enfermedad generalizada.

Diagnóstico

Ante la sospecha clínica de una candidosis es imprescindible realizar el diagnóstico de laboratorio (véase cap. 27). Se utilizan **métodos directos**, tales como examen microscópico, cultivos e identificación.

Lo que establece el diagnóstico de la enfermedad a nivel bucal es el examen microscópico. Para este fin es conveniente obtener material por raspaje de la lesión y de la lengua, pero por separado, debido a que éste es el lugar más parasitado incluso en estado de salud. Deben seguirse todos los pasos que se citan en el capítulo 27.

La observación puede realizarse en fresco si se dispone de microscopio en el momento; pueden efectuarse preparados aclarados con hidróxido de potasio (véase cap. 31) si hay algo de capa córnea. Los preparados fijados y coloreados con el método de Gram ayudan a identificar la biota acompañante. Los extendidos que no han sido fijados pueden colorearse con la técnica de Giemsa (fig. 24-4), que es de mucha utilidad. A veces se recurre a una técnica de fluorescencia inespecífica con buenos resultados; es la técnica del blanco de calcoflúor, que se utiliza cuando se dispone de equipamiento más complejo.

Si la muestra es positiva, con cualquiera de estos procedimientos se visualizan los elementos unicelulares brotantes y con cierta frecuencia pseudohifas (fig. 24-4).

Hasta hace pocos años esto era lo más importante. Actualmente se han detectado otras especies de *Candida* no *albicans* resistentes al tratamiento. También se ha comprobado que hay pacientes que están parasitados por más de una especie de *Candida*. Por lo tanto, debe completarse el diagnóstico con el cultivo y la tipificación de la especie.

Es conveniente tomar una muestra más o menos abundante por hisopado o raspaje e introducirla en caldo BHI como medio de enriquecimiento y transporte. En el laboratorio se la trasplanta a medio de Sabouraud (véase cap. 9) con antibiótico y CHROMagar®. Es aconsejable que estas siembras se realicen por diseminación para aislar posibles colonias diferentes. Si se ha utilizado el segundo medio, en 48 horas puede tenerse la confirmación de la especie; en caso de que no se haya logrado la tipificación será necesario recurrir a los



Fig. 24-4. Extendido coloreado con la técnica de Giemsa, donde se ven pseudohifas, $\times 1.200$.

otros métodos que se han mencionado, o a equipos comerciales, o a diversas técnicas de laboratorio necesarias para identificar especies (fig. 24-5).

Sólo en contadas ocasiones se aconseja efectuar una toma biopsia. Ésta, como es de rigor, se divide en dos trozos, uno para estudio histopatológico y otro para el estudio micológico.

La sensibilidad a los antimicóticos se incluye excepcionalmente en la rutina diagnóstica.

El diagnóstico indirecto, por medio de pruebas serológicas, no es útil para esta enfermedad. En esta localización *Candida* no despierta respuesta humoral.

Las lesiones candidiásicas son rebeldes, dado que casi siempre obedecen a causas del hospedador; por lo tanto, son recidivantes.

Nociones de tratamiento

El tratamiento debe apuntar a corregir o controlar las causas predisponentes, si ello es posible, y además deben utilizarse antimicóticos adecuados. Entre estos agentes figura la nistatina, de acción sólo local. Los azólicos pueden prescribirse por vía digestiva, aunque hay preparados en gel u otras formas de aplicación tópica. Es posible ayudar a disminuir la colonización y colaborar con el tratamiento sistémico con compuestos que contengan yodopovidona.

Las cremas o geles no siempre dan el resultado esperado debido a la facilidad con que se los elimina al deglutir saliva.



Fig. 24-5. Flujoograma para el diagnóstico de la candidosis oral.

Prevención

Esta enfermedad **no deja inmunidad**, porque el agente causal forma parte de la microbiota oral complementaria y, por lo tanto, hay medidas que deben indicarse o practicarse para evitar su aparición en la boca.

Debe instruirse a los enfermos acerca de las técnicas de higiene bucal y sobre el cuidado de las prótesis o implantes, o de cualquier otro dispositivo que deba colocarse en la cavidad oral. Además, debe indicarse la reducción de la ingesta de hidratos de carbono, incluso de los almidones.

Si es necesario prescribir antimicrobianos, el

profesional debe recabar información sobre los posibles antecedentes diabéticos; en estos casos siempre es preferible inclinarse por un antibiótico de espectro reducido. Hay que manejarse con igual cautela respecto de los corticoides, que deberán ser proscriptos en esos casos.

Cuando hay causas de hiposalivación, pueden indicarse salivas artificiales.

Deben examinarse cuidadosamente todas las bocas para prevenir el trauma.

En aquellos pacientes que sigan presentando factores de riesgo habrá que controlar periódicamente la cavidad bucal.

Resumen

Las candidosis son afecciones debidas a hongos del género *Candida* sumamente difundidas, puesto que son de origen endógeno. Pueden asentarse en diversos órganos y tejidos. La boca suele ser una localización frecuente en los pacientes con SIDA y aquellos que presentan otras causas predisponentes.

Las manifestaciones clínicas son muy variadas.

El hongo posee ciertos factores de virulencia, pero lo más necesario para que se instale la enfermedad es la presencia de causas predisponentes del hospedador, tanto intrínsecas como iatrogénicas.

La especie de *Candida* aislada con mayor frecuencia de muestras clínicas es *Candida albicans*. Ésta se caracteriza por tener talo unicelular, y producir pseudofilamentos y clamidosporas, se desarrolla con mucha facilidad, es sensible a los compuestos yodados, al cloro y al borato de sodio, pero no a los ácidos y resiste bien en el ambiente.

Las otras especies de *Candida* no *albicans* que se recuperan a partir de materiales clínicos son *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida parapsilosis*.

El diagnóstico más importante es el que se realiza con los extendidos, coloreados o no. Los cultivos permiten diferenciar las especies y suponer la respuesta al tratamiento. A nivel de la cavidad bucal éste puede basarse en la nistatina y en compuestos azólicos, y localmente puede implementarse con geles o preparados que contengan povidona-yodo.

Lo mejor es establecer ciertas pautas de prevención si ello es posible.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué hábitat y qué características generales tiene el género *Candida*?
2. ¿Cuáles son las características morfológicas y de cultivo de *C. albicans*?
3. Enumere los factores de virulencia de *Candida*.
4. ¿Qué sensibilidad a los agentes físicos y químicos puede señalar?
5. ¿Cuáles son las acciones patógenas de *Candida* y a quiénes afectan?
6. Mencione las causas generales y locales que predisponen a esta enfermedad.
7. Explique dónde pueden asentarse y qué características pueden tener las candidosis bucales.
8. ¿Qué sintomatología acompaña a las candidosis?
9. Describa los métodos que se utilizan para el diagnóstico de las candidosis orales.
10. ¿Qué fármacos son de utilidad?
11. Cite medidas preventivas a nivel bucal.

BIBLIOGRAFÍA

Arenas R. Capítulo 20: Candidosis. En: Micología médica ilustrada. 2ª ed. México: Mc Graw Hill, 2003; pp. 189-203.

Negróni M. Capítulo 23: Enfermedades micóticas. Primera parte: Candidosis. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 362-362.

HISTOPLASMOSIS BUCAL

A veces lo primero que llama la atención del enfermo es la presencia de lesiones en la mucosa bucal, en la cual pueden aparecer **úlceras** con dos aspectos. Unas son de bordes netos y más o menos profundas, mientras que hay otras de contornos irregulares y más superficiales cubiertas de necrobiosis o secreciones (fig. 24-8) (problema 24-2). Puede haber más de una lesión. Hay dolor, sialorrea y adenopatía.

Otros enfermos presentan **manifestaciones de tipo nodular**. En algunos casos las lesiones adquieren un aspecto **ulcerovegetante**.

Si existe **compromiso laríngeo**, éste se traduce en una **marcada disfonía**.

Diagnóstico

Aunque se trata de una enfermedad generalizada, el estomatólogo o el odontólogo pueden llegar a diagnosticarla y luego derivar al paciente a quien corresponda.

Para este fin primero es necesario partir de un minucioso examen clínico con una prolija anamnesis; esto será seguido por el diagnóstico diferencial y, por último, por el diagnóstico de sospecha o presuntivo. Recién en ese momento, como se señala en el capítulo 27, se está en condiciones de obtener material.

La mejor muestra en estos casos es la que brinda una toma biopsica. Como se indica en ese capítulo, se la divide en dos trozos. Uno se incluye en formol, para el estudio histopatológico, el otro se coloca en un frasco estéril que contenga solución fisiológica adicionada con antibiótico y se remite al laboratorio de microbiología.

Diagnóstico de laboratorio

En el laboratorio la biopsia se corta con el auxilio de pinzas y tijera estériles. Se hacen improntas (impresiones) de la parte seccionada sobre portaobjetos también estériles. Estos preparados, generalmente en número de tres o cuatro, se colorean con las técnicas de Giemsa, Gram y Ziehl-Neelsen. Mediante el procedimiento de Giemsa, si la muestra es positiva, en el examen microscópico se ven elementos levaduriformes con brote o sin él. Cuando hay brote, éste es único. Las células están rodeadas por un halo incoloro (pared) y en el interior hay una zona con forma de semiluna, más intensamente teñida, en general en ubicación intracelular (fig. 24-9). La coloración de Gram ayuda a visualizar la biota acompañante y la de Ziehl-Neelsen permite distinguir si se trata de un caso asociado con tuberculosis.



Fig. 24-8. Lesión de úlcera necrobiótica.

Con el resto del material biopsico convenientemente triturado en morteros estériles se siembran de cuatro a seis tubos que contengan agar BHI con antibiótico y agar miel igualmente adicionado con antibiótico antibacteriano. Los primeros se incuban a 37 °C y los otros a temperatura ambiente, por espacio de 7 a 14 días o más.

Si la biopsia era positiva, al finalizar el período de incubación desarrollarán los cultivos típicos de las fase saprofitica (a 28 °C) y parasitaria (a 37 °C), con las características ya descritas.

Además de estos diagnósticos, en lugares especializados se emplean técnicas serológicas con resultados óptimos.

RESPUESTA INMUNE

La respuesta inmune queda ampliamente evidenciada por el alto número de individuos infectados en áreas endémicas en contraste con el número de enfermos.

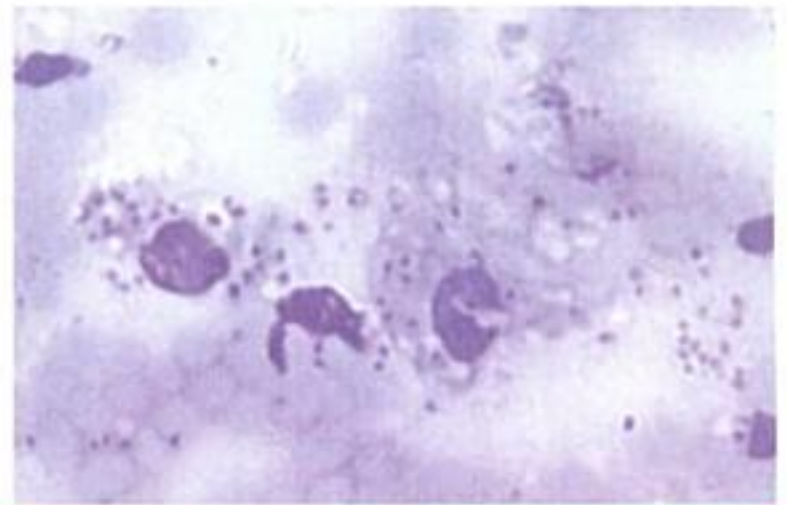


Fig. 24-9. Extendido de la fase parasitaria, coloreado con Giemsa, $\times 1.200$.

Se ha demostrado que el papel protector del sistema inmune reside en la respuesta celular, lo que posiblemente determine que la prueba cutánea (intradermorreacción) de sensibilidad al antígeno específico (histoplasmina o histolisina), que es más sensible en los individuos infectados, se torne negativa (anergia) en los que padecen la enfermedad diseminada. Estas pruebas son iguales a la de tuberculina y un resultado positivo es índice de infección actual o pasada, pero no hace diagnóstico de enfermedad.

Como ya se mencionó, pueden realizarse pruebas serológicas, de inmunodifusión, de fijación del complemento y de contrainmunolectroforesis que permiten confirmar el diagnóstico, evaluar el esta-

do de respuesta del hospedero y seguir la evolución de la enfermedad.

NOCIONES DE TRATAMIENTO

Las primeras remisiones de la enfermedad se lograron con sulfamidas, las que luego fueron reemplazadas por antimicóticos del tipo de la anfotericina B, el ketoconazol y el itraconazol. Este último tratamiento se mantiene de por vida, para evitar las reactivaciones en los pacientes con SIDA.

La mayoría de los enfermos se recupera con el tratamiento adecuado.

Resumen

La histoplasmosis es una micosis profunda de origen exógeno con especial predilección por los órganos ricos en elementos del sistema reticuloendotelial. Se considera que tiene una distribución casi universal. El hongo causal dimorfo, *Histoplasma capsulatum*, penetra por vía inhalatoria; *H. capsulatum* provoca cuadros de infección, pero si hay alguna disminución en las defensas del hospedador, origina cuadros con diversa evolución y sintomatología. Las lesiones en la mucosa bucal suelen ser los primeros síntomas más llamativos.

El diagnóstico a partir de las biopsias se encara por métodos directos (examen microscópico y cultivos). Los métodos indirectos constituyen una gran ayuda.

El tratamiento con anfotericina B o con itraconazol es exitoso.

Preguntas de revisión

1. ¿Cómo definiría la histoplasmosis?
2. ¿Cuáles son las características generales del agente etiológico de esta enfermedad?
3. ¿Cuál es el hábitat de *H. capsulatum*?
4. ¿Por qué vía penetra y se disemina el hongo?
5. ¿Con qué característica se lo visualiza en los tejidos?
6. ¿Qué manifestaciones clínicas generales y bucales de la histoplasmosis puede describir?
7. ¿Qué métodos se utilizan para la obtención de la muestra y cómo se encara el diagnóstico de la histoplasmosis?
8. ¿Qué fármacos son útiles para el tratamiento de esta enfermedad?

BIBLIOGRAFÍA

Arenas R. Capítulo 17: Histoplasmosis. En: Micología médica ilustrada. 2ª ed. México: Mc Graw Hill, 2003; pp. 63-171.

Negróni M. Capítulo 23: Enfermedades micóticas. Segunda parte: Histoplasmosis. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 369-373.

tejidos; por lo tanto, se trata de la **fase parasitaria**. En esta fase se ve un **talo unicelular grande** (de 10 a 40 μm) con pared celular de doble contorno y con **brotación múltiple**. No siempre es posible ver el aspecto típico, comparable con una rueda de timón; es más común visualizar cadenas de tres elementos, célula madre y dos brotes (fig. 24-10).

En los cultivos a 37 °C, en medios enriquecidos como agar sangre o agar infusión de cerebro corazón (agar BHI), después de 14 días a un mes de incubación se observa un desarrollo de tipo plegado (de aspecto cerebriforme) de consistencia pastosa y color blanco amarillento.

La **fase saprofitica es filamentosa y carece de elementos particulares** que permitan su identificación. Sólo es posible ver un micelio hialino, ramificado y tabicado con clamidosporas y conidios indistinguibles de los de otros hongos.

En los cultivos en agar miel e incubados a 28 °C crecen colonias muy pequeñas que con el tiempo se presentan vellosas y de color blanco grisáceo.

Fuente de infección

Se supone que la fuente de infección es la **tierra** vecina a los cursos de agua dulce. Los elementos infectantes son los **conidios que se vehiculizan por el aire** en las zonas endémicas.

Vía de penetración

Es sin lugar a dudas la **inhalatoria**, pese a que en un tiempo se creía que el microorganismo podía penetrar por medio de un traumatismo. La infección a través de la piel o las mucosas ha sido descartada.

Período de incubación

Cuando la persona ha nacido en el área endémica y no se ha trasladado muchas veces, es imposible establecer el período de incubación.

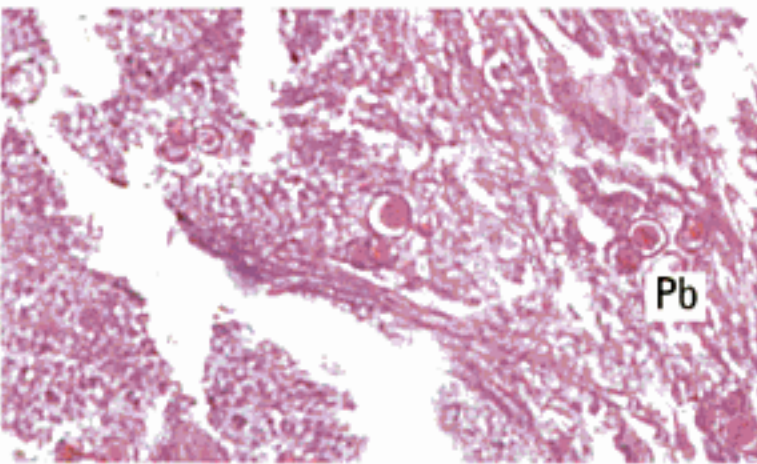


Fig. 24-10. Corte coloreado con la técnica de PAS, elementos de *P. brasiliensis* (Pb), $\times 1.200$.

Sin embargo, dado el prolongado período de generación que tiene el hongo, se supone que dura entre **un mes y varios años**. Hay enfermos en los que la dolencia se ha hecho evidente luego de treinta años de haber abandonado el área endémica.

PATOGENIA

Dado que hay un gran número de individuos infectados y los casos de enfermedad no son tantos, es necesario que haya algún **quebrantamiento del estado de las defensas del hospedador**. El **etilismo** es una causa bastante importante de predisposición a esta enfermedad.

Igual que en la histoplasmosis, los conidios llegan al pulmón, y allí se produce la **primoinfección**, que puede pasar inadvertida. Sólo se la detecta por medio de la intradermorreacción positiva con la paracoccidioidina.

Si la infección evoluciona hacia la **enfermedad**, ésta puede adquirir diversas formas y seguir distintas evoluciones, según el estado del hospedador.

La sintomatología pulmonar, que a veces es mínima, no difiere de la que producen otros agentes infecciosos.

Las lesiones en la mucosa naso-orofaríngea suelen ser la regla y son secundarias a la **diseminación por vía linfática, primero, y sanguínea después**. Estas manifestaciones son las que, en general, motivan la consulta.

Puede haber **paracoccidioidomicosis primaria y de reactivación**.

A diferencia de la histoplasmosis, esta enfermedad no es común en los enfermos de SIDA.

PARACOCCIDIOIDOMICOSIS ORAL

Del 51 al 82% de las localizaciones extrapulmonares de esta enfermedad se manifiestan en la mucosa oral. **Puede haber distintas presentaciones**. Se han comunicado casos de **granulomas apicales** y de **periodontitis brusca** con aflojamiento brusco de piezas dentarias. Las lesiones más llamativas son las **ulcerosas** (problema 24-3), en las que se comprueba un fondo duro en el que se destaca un gran número de microabscesos que alternan con puntos hemorrágicos. Esto le confiere un parecido con una mora, lo que hace que se la designe **estomatitis moriforme** (fig. 24-11). Se asientan en paladar, gíngiva, lengua, labios, carrillos y piso de boca. Provocan dolor a la masticación y a la deglución.



Fig. 24-11. Lesiones en la mucosa oral. (Gentileza del profesor doctor R. Negroni.)

El compromiso de los linfáticos provoca una forma clínica a nivel de los labios que recibe el nombre de **labio trombiforme** o **boca de tapir**. La cadena ganglionar del cuello está afectada; en ocasiones **los ganglios se ulceran o fistulizan** y semejan una escrófula.

Como además de localizarse en los pulmones este hongo se disemina a distintos órganos, entre ellos las **glándulas suprarrenales**, es posible observar **manchas de color pizarra en la mucosa bucal**, semejante a lo que ocurre en la enfermedad de Addison.

También se han detectado manifestaciones peribucales y nasales con aspecto vegetante.

Siempre que se esté en presencia de lesiones como las que se han descrito deben indicarse radiografías, dado que en gran número de casos la enfermedad **afecta los huesos**, entre ellos los maxilares.

DIAGNÓSTICO

No difiere del que debe practicarse para diagnosticar una histoplasmosis.

Pueden obtenerse muestras por medio de biopsias, raspado y punción ganglionar.

El método más rápido y al mismo tiempo eficaz para diagnosticar una paracoccidioidomicosis es el examen microscópico en fresco. Si el material se obtuvo por biopsia, los cortes pueden teñirse con la técnica de PAS (*periodic acid Schiff*, fig. 24-10) o con algún método argéntico, especialmente la técnica de Grocott con metenamina plata.

Pese a la facilidad con que se identifican los elementos del hongo a través de la **microscopía directa**, siempre se utilizan las técnicas de coloración complementarias, con el mismo propósito que se explicó para la histoplasmosis.

Las biopsias, los raspajes o los líquidos de punción se siembran en baterías de cuatro a seis tubos; dos o tres de ellos deben contener agar sangre o agar BHI, que se incuba a 37 °C, y los restantes con agar miel adicionado con antibiótico (véase cap. 9) se dejan a 28 °C. El período de incubación debe durar un mes. No obstante, no siempre es posible recuperar el microorganismo por medio de los cultivos.

La inoculación en animales de laboratorio es exitosa en el cobayo por la vía intratesticular, aunque ahora se usa menos, porque ha sido reemplazada por otros diagnósticos.

Como en otras micosis profundas, las **pruebas serológicas** ayudan a determinar la etiología y a realizar el seguimiento del enfermo, ya que por medio del título de anticuerpos es posible evaluar la gravedad de la enfermedad al comienzo y luego comprobar si se produce un descenso del título, lo que indicaría una evolución favorable.

Como se destaca en otras partes de este texto, la prueba cutánea de hipersensibilidad retardada o intradermorreacción con la paracoccidioidina es útil para diagnosticar los casos de infección. También puede realizarse como complemento del diagnóstico, después de haber extraído sangre para serología. En los casos muy graves esta prueba puede arrojar un resultado negativo, que se positiviza cuando el tratamiento logra revertir el estado de anergia generado por la gran carga antigénica.

Es preciso establecer el diagnóstico lo antes posible, dado que la curación de esta micosis se hace por fibrosis, **bridas cicatrizales**, bastante importantes y muy invalidantes según dónde asienten.

Como en otras enfermedades de este tipo, el diagnóstico histopatológico es de gran utilidad para estimar el tipo de respuesta del organismo.

NOCIONES DE TRATAMIENTO

Siempre debe descartarse la posibilidad de que exista una tuberculosis subyacente. La administración de anfotericina B o itraconazol a esos pacientes puede producir un empeoramiento de esa enfermedad.

Fuera de esta precaución *P. brasiliensis* responde satisfactoriamente al tratamiento antimicótico, no sólo encarado con esos fármacos, sino también y en forma exitosa con ketoconazol y con la combinación de trimetoprima-sulfametoxazol.

Si se hizo el diagnóstico a tiempo, la evolución es favorable en la mayoría de los casos de adultos.

Resumen

La paracoccidioidomicosis es una micosis profunda de naturaleza exógena, endémica y de tipo granulomatoso que puede dar formas asintomáticas, como una infección micótica o formas de enfermedad con compromiso pulmonar primario y diseminación, especialmente en las mucosas bucal y nasal.

El diagnóstico se basa en métodos directos (examen microscópico y cultivos) e indirectos.

El método directo es muy concluyente, porque éste es el único hongo unicelular multi-brotante.

El tratamiento se encara con anfotericina B, itraconazol, ketoconazol y trimetoprima-sulfametoxazol.

Preguntas de revisión

1. ¿Cuál es el área endémica de paracoccidioidomicosis en la Argentina?
2. ¿Cuál es la fuente de infección de esta micosis?
3. ¿Por qué vía penetra el inóculo infectante?
4. ¿Por qué vías se disemina la enfermedad?
5. ¿Qué aspectos pueden adquirir las manifestaciones orales?
6. ¿Qué materiales son útiles para arribar al diagnóstico?
7. ¿Qué tipo de diagnóstico es el más rápido y eficaz?
8. ¿Qué drogas se usan para el tratamiento?

BIBLIOGRAFÍA

Arenas R. Capítulo 18: Paracoccidioidomicosis. En: Micología médica ilustrada. 2ª ed. México: Mc Graw Hill, 2003; pp. 173-179.

Negróni M. Capítulo 23: Enfermedades micóticas. Tercera parte: Paracoccidioidomicosis. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2001; pp. 373-376.

Contenidos

Definición. Hábitat. Características morfológicas y de cultivo. Fuente de infección. Vía de penetración. Epidemiología. Clínica. Diagnóstico. Evolución. Inmunidad. Nociones de tratamiento.

Objetivos

- Definir las características de la enfermedad.
- Describir el agente etiológico habitual y fuente de infección.
- Mencionar métodos de diagnóstico y tratamiento.

DEFINICIÓN

La criptococosis es una **micosis sistémica de origen exógeno y de distribución universal** debida a un hongo monomorfo y **unicelular brotante** conocido como *Cryptococcus neoformans*. Este hongo, aunque monomorfo, posee estado sexual. La criptococosis se asocia con **síntomas pulmonares y del sistema nervioso central**.

HÁBITAT

C. neoformans fue **aislado del ambiente** ya en el siglo pasado.

Se ha demostrado que las heces de las palomas y otras aves favorecen notoriamente su desarrollo.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y DE CULTIVO

Hasta el momento se conocen dos variedades de este hongo, a saber, *C. neoformans*, variedad *neoformans* y *C. neoformans*, variedad *gatti*. Estas variedades, a su vez, tienen serotipos. Si bien en la Argentina sólo se había aislado *C. neoformans*, variedad *neoformans*, recientemente se han aislado ambas variedades. El estado perfecto o teleomorfo

se denomina *Filobasidiella neoformans*, con dos variedades.

Desde el punto de vista morfológico, este microorganismo presenta un **talo unicelular esférico** u oval de 3,5 a 8 μm de diámetro, **con un solo brote**. Sin embargo, hay elementos que alcanzan un tamaño de 60 μm si se los incubaba a temperaturas elevadas. Recientemente también se ha comprobado que algunas cepas pueden producir filamentos.

C. neoformans posee una **gruesa cápsula constituida por mucopolisacáridos** que es evidenciable en los materiales obtenidos de las lesiones mediante preparados en fresco con tinta china (fig. 24-12). Puede pensarse que esta gruesa cubierta es un **factor de virulencia**.

El microorganismo se desarrolla con facilidad y rapidez en muchos medios de cultivo y la abundancia del material capsular les confiere a las colonias un aspecto mucoide bastante típico.

FUENTE DE INFECCIÓN

Como en otras micosis profundas, **no existe el contagio interhumano** y de lo expuesto se deduce que la fuente de infección se encuentra en los lugares muy contaminados por deyecciones de aves, especialmente palomas, sobre todo si perma-

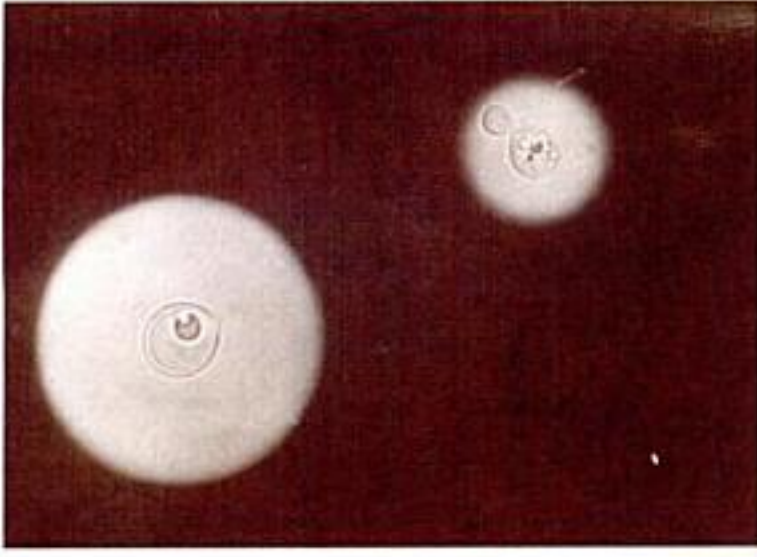


Fig. 24-12. Preparado por contraste con tinta china de *C. neoformans*, $\times 1.200$. (Gentileza del profesor doctor R. Negroni.)

necen acumuladas por largos períodos en vanos de ventanas o edificios en construcción. Las maderas, las hojas y los frutos de los árboles del género *Eucalyptus* son los reservorios naturales de la variedad *gatii*.

Vía de penetración

La vía de penetración es **inhalatoria**. Se cree que penetran los elementos de propagación de la fase sexuada y asexuada.

EPIDEMIOLOGÍA

Como ya se dijo, la criptococosis tiene una distribución universal. Se trata de una dolencia muy relacionada con la pandemia de SIDA, pues el 80% de los casos se asocia con esta enfermedad. En cierto modo es una micosis oportunista, dado que evoluciona a cuadros graves o mortales en enfermos con defectos inmunológicos.

CLÍNICA

Puesto que no produce manifestaciones bucales, esta micosis sólo se comenta a título ilustrativo y diferencial; sin embargo, este tipo de localización ha sido descrita en pacientes de raza negra HIV-positivos en los Estados Unidos, pero no ha sido posible detectarla en otros enfermos.

El cuadro primario es pulmonar, pero como sucede en otras patologías, no es específico y, por lo tanto, no permite suponer el diagnóstico diferencial.

La diseminación por vía hematógena hace que el hongo llegue al sistema nervioso central, con compromiso meníngeo. La meningitis criptocócica raras veces se acompaña de lesiones cutáneas de tipo ulceroso. La sintomatología es similar a la de otros cuadros meníngeos; lo más destacable es que el líquido cefalorraquídeo es claro, no purulento, con escasas células y con predominio de linfocitos.

DIAGNÓSTICO

Se establece por métodos directos a partir del raspaje de las úlceras o del examen del líquido cefalorraquídeo.

Para la visualización se utilizan técnicas de contraste con tinta china.

Los cultivos son fáciles de obtener. Se practica dosaje de antígeno capsular polisacárido (antigenemia) en los distintos líquidos orgánicos, entre ellos el líquido cefalorraquídeo, con el uso de la aglutinación con partículas de látex tratadas con antisuero contra el polisacárido capsular.

EVOLUCIÓN

La evolución de la enfermedad suele ser **aguda y grave**, especialmente las formas meníngeas y asociadas a SIDA.

INMUNIDAD

Habitualmente no es posible probar la presencia de anticuerpos circulantes. Se han realizado pruebas cutáneas con el antígeno específico para demostrar la "infección", pero no representan una práctica común.

Sin embargo, puede determinarse antigenemia en líquido cefalorraquídeo y en suero, así como también anticuerpos fluorescentes por medio de técnica indirecta (véase cap. 31-6).

NOCIONES DE TRATAMIENTO

Se utiliza la asociación de anfotericina B y 5-fluorocitosina. También se prescriben azólicos, especialmente fluconazol. No obstante, por tratarse de una enfermedad que afecta fundamentalmente a pacientes inmunocomprometidos, el pronóstico es reservado.

Se encuentran en vías de experimentación vacuina y anticuerpos monoclonales.

Problema 24-2

Remiten, a la cátedra de Microbiología de la FOUBA, un paciente del sexo masculino de 62 años, por una lesión en el reborde alveolar inferior, debajo de una prótesis removible, con el diagnóstico presuntivo de una candidosis.

El paciente tiene buen aspecto general. Fue empresario de una compañía pavimentadora, con obras en el Gran Buenos Aires, hace algunos años; actualmente está retirado.

Al examen clínico se observa una lesión ulcerosa algo necrobiótica. No se visualizan otras alteraciones. Como único dato complementario, el paciente hace saber que tomó corticoides durante unos meses previos por una afección reumática.

Se obtiene material por raspaje para su diagnóstico. En el examen microscópico coloreado con la técnica de Gram, se ven bacterias comunes de boca; en la coloración de Ziehl-Neelsen, no se observan elementos ácido-alcohol resistentes; en la coloración de Giemsa, se visualizan formas ovoides, teñidas irregularmente, como si tuvieran un casquete polar con un halo incoloro en el interior de los macrófagos; no se perciben otros elementos levaduriformes, ni pseudofilamentos.

Preguntas:

1. ¿Cuál es su diagnóstico de presunción?
2. ¿Por qué el profesional tratante sospechó una candidosis?
3. ¿Cómo y dónde sembraría el resto del material obtenido?
4. ¿Pueden solicitarse otros diagnósticos?
5. ¿Cuándo y cómo adquirió la primoinfección?
6. ¿Qué papel jugó la prótesis inferior?
7. ¿Por qué se evidenció en ese momento la enfermedad?
8. ¿Qué papel puede desempeñar un odontólogo frente a un caso así?

Problema 24-3

Un enfermo de 57 años, de sexo masculino, trabajador rural en la cosecha de algodón (Prov. de Chaco), acude al Hospital Municipal de Odontología "José Dueñas". Consulta por una lesión en la mucosa bucal. Ésta asienta en el triángulo retromolar izquierdo, tiene aspecto ulceroso, de bordes nítidos y fondo irregular, blanco y con puntos hemorrágicos, y duele a la presión. Se palpan adenopatías submaxilares y submentonianas, además en la gingiva superior se perciben algunas manchas oscuras, melánicas. El estado general es razonablemente bueno, aunque afirma que ha perdido peso en el último tiempo. En el interrogatorio acusa que bebe entre 1 y 2 litros de vino por día por el calor de la zona.

Para conocer la etiología de la úlcera, se practica una toma biopsia, que se divide en dos trozos. Una para anatomía patológica y otra para el laboratorio de microbiología.

En la muestra que se procesa en Microbiología, como es de rutina, se hacen distintos tipos de exámenes microscópicos y en el que se realiza por impronta sobre un portaobjetos y se examina en fresco, se visualizan elementos globulosos, grandes, con doble contorno o pared y con más de un brote cada uno.

INFECCIONES VIRALES

1º PARTE

VIRUS HERPES

María Rosa Ramella, María Inés González y Norberto Sanjuan

Contenidos

Virus herpes simplex. Características básicas. Replicación viral. Epidemiología. Patogenia y patología. Latencia. Recurrencias. Diagnóstico de laboratorio. Profilaxis. Virus varicela-zoster. Características básicas. Patogenia y patología. Diagnóstico de laboratorio. Profilaxis. Virus Epstein-Barr. Características básicas. Patogenia y patología. Manifestaciones clínicas. Diagnóstico. Profilaxis. Virus herpes humanos de los tipos 6, 7 y 8.

Objetivos

Describir la etiopatogenia, las manifestaciones clínicas, la epidemiología, el diagnóstico, la prevención y las implicancias odontológicas de las enfermedades virales producidas por los siguientes agentes:

- Virus herpes simplex 1 y 2.
- Virus varicela-zoster.
- Citomegalovirus.
- Virus Epstein-Barr.
- Virus herpes humano 8.

INTRODUCCIÓN

La familia *Herpesviridae* comprende virus estructuralmente similares que se encuentran tanto en el hombre como en los animales. Estos virus son ubicuos y figuran entre los agentes infecciosos adquiridos con mayor frecuencia.

Según sus propiedades biológicas se subdividen en tres subfamilias (cuadro 25-1):

- *Alfaherpesvirinae*, que incluye los virus herpes simplex 1 (HSV-1), herpes simplex 2 (HSV-2) y varicela-zoster (VZV). Estos virus lisan las células infectadas, crecen de forma rápida en cultivos celulares y establecen infecciones latentes en ganglios neurales sensoriales o sensitivos.
- *Betaherpesvirinae*, que comprende el citomegalovirus (CMV), el virus herpes humano 6 (HHV-6) y el virus herpes humano 7 (HHV-7). El crecimiento de estos virus es lento en cultivos celulares. Infectan tejidos linfoides, las glándulas salivales y los riñones.
- *Gammaherpesvirinae*, que comprende el virus Epstein-Barr (EBV), el cual replica en células

linfoides y puede producir infecciones líticas en células epiteliales; la latencia se establece en células linfoides. Dentro de este grupo se ubica también al virus herpes humano 8 (HHV-8).

Todos los virus herpes son clasificados como tales por presentar dos cualidades: su **ultraestructura** y la capacidad para producir **infecciones intracelulares latentes**, que pueden reactivarse periódicamente.

Cuadro 25-1. Clasificación de los virus herpes humanos

Subfamilias	Especie
<i>Alfaherpesvirinae</i>	Virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) Virus herpes simplex tipo 2 (HSV-2) Virus varicela-zoster (VZV)
<i>Betaherpesvirinae</i>	Citomegalovirus (CMV) Virus herpes humano 6 (HHV-6) Virus herpes humano 7 (HHV-7)
<i>Gammaherpesvirinae</i>	Virus Epstein-Barr (EBV) Virus herpes humano 8 (HHV-8)

Desde el punto de vista de la ultraestructura, tienen una **envoltura** lipoproteica originada por su interacción con las membranas celulares y una **cápside** icosaédrica que contiene **DNA bicatenario**. Lo particular de estos virus es que entre la envoltura y la cápside presentan una zona fibrilar, amorfa, denominada **tegumento** que no se observa en otras familias virales.

Por otra parte, el concepto básico de **latencia** es un tipo de infección en la que el virus permanece en el interior de una célula sin expresar proteína alguna y sin replicarse, pero puede reactivarse periódicamente ante estímulos inespecíficos.

VIRUS HERPES SIMPLEX

Características básicas

Los virus herpes simplex pueden ser divididos en herpes simplex 1 (HSV-1) y herpes simplex 2 (HSV-2). El HSV-1 fue descubierto en 1919 por Lowenstein y recién en 1962 Schneweiss describió al serotipo HSV-2. Tienen un **tamaño** intermedio dentro de la escala de los virus conocidos, que es de 150 a 190 nm.

Pueden infectar una amplia variedad de células *in vitro*, aunque *in vivo* se acepta que tienen un **tropismo** preferencial por los tejidos derivados del ectodermo embrionario, especialmente la piel y el sistema nervioso.

Ultraestructuralmente están formados, de afuera hacia adentro, por una o dos envolturas lipoproteicas, el tegumento y una nucleocápside (fig. 25-1). La o las envolturas presentan en las preparaciones fijadas un aspecto de membrana trilaminar, ya que se originan en parte de la interacción del virus con las membranas celulares. Su composición lipoproteica hace que el virus sea sensible a los detergentes y a solventes orgánicos.

La **envoltura** contiene diez glucoproteínas ubicadas en espículas, de las cuales las más importantes son gB, gC y gD, porque reconocen e interactúan con el receptor celular, y gG, ya que, al ser parcialmente distintas las presentes en la superficie del HSV-1 con la existente en el HSV-2, permiten determinar por ensayos inmunológicos si los anticuerpos que tiene un paciente están dirigidos contra uno u otro tipo viral.

El **tegumento** es una estructura fibrilar amorfa compuesta por varios péptidos, del cual el más importante es **VP-16** (VP *viral protein*) por su participación en la replicación viral.

La **cápside** tiene simetría icosaédrica y composición proteica, y cubre y protege al DNA viral. Este último es lineal y bicatenario, y está dividido en dos fragmentos, uno largo y el otro corto, denominados U_L y U_S . Ambos fragmentos están flanqueados por secuencias de DNA repetitivas, pero inversas (es decir, palindrómicas), que permiten que eventualmente el virus pueda unirse por esas secuencias formando una estructura circularizada.

El **genoma** viral es muy complejo y está integrado por alrededor de ochenta genes. La organización funcional de estos genes hace que se los divida en tres grupos: los **alfa** o inmediatamente tempranos, los **beta** o tempranos y los **gamma** o tardíos. La referencia en cuanto a genes tempranos o tardíos indica si se expresan antes o después de la replicación del ácido nucleico viral. Los genes tempranos son regulatorios y los tardíos codifican péptidos estructurales.

Los genes más importantes para comprender el ciclo lítico y la latencia de estos virus son los cinco genes alfa, de los cuales dos son críticos en este proceso: el alfa 0 y el alfa 4. Ellos determinan el comienzo del ciclo replicativo viral, que consiste en la expresión de genes en forma de "oleadas", es decir, los alfa inducen la expresión de los beta y éstos de los gamma y, simultáneamente, cada

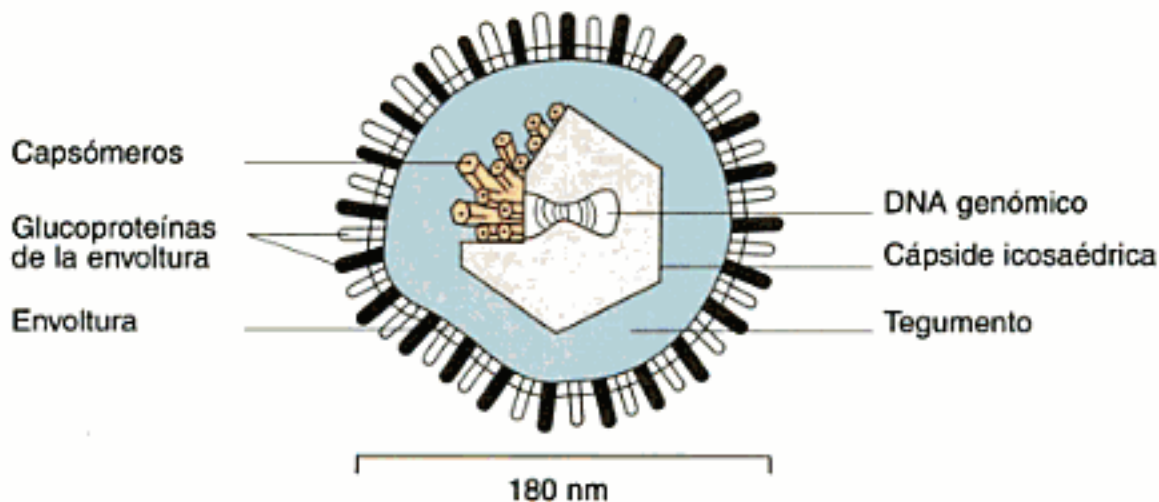


Fig. 25-1. Esquema de la estructura de los virus herpes.

grupo inhibe la expresión de los anteriores. Esta explicación es muy general y sobresimplificada, pero suficiente para imaginar la complejidad de la expresión del genoma de estos virus.

Algunos genes merecen ser resaltados por su función, además de los ya mencionados alfa 0 y alfa 4. Existen tres transcritos de RNA que no tienen polaridad de "mensajero" (es decir que no traducirán su información en proteínas) denominados **LAT** (del inglés *latency-associated transcripts* o **transcritos asociados a la latencia**). Estos genes se expresan tanto en el ciclo replicativo del virus como durante la infección latente, de allí su nombre; en este último caso son los únicos genes virales cuya expresión puede detectarse. Los LAT, además, inhiben la muerte por apoptosis de las neuronas en la que los virus provocan latencia, hecho muy conveniente para la conservación de esta especie viral y, además, han sido asociados experimentalmente al tropismo de los HSV; es decir, algunas cepas de HSV-1 artificialmente mutadas para codificar los LAT del HSV-2 tienen el tropismo propio de estos últimos, así como también se observó el mecanismo inverso.

Otro gen de importancia es el que codifica una enzima denominada **timidina cinasa (TK)**. Ésta se relaciona con la **neurovirulencia** de las cepas de HSV y, controvertidamente, con la eficiencia de las reactivaciones durante la infección latente. Pero desde el punto de vista médico y odontológico, lo importante es recordar que es el sustrato sobre el que actuará el acyclovir y sus derivados, que son los fármacos efectivos para tratar las infecciones agudas por HSV. Se describieron cepas de HSV que son deficientes en TK (las llamadas TK), en las que estos antivirales no actúan y deben ser reemplazados por otros.

Por último, el genoma de HSV tiene una secuencia denominada **GRE** (del inglés *glucocorticoid response element* o **elemento de respuesta a los glucocorticoides**). Esta secuencia se encuentra muy cerca de uno de los orígenes de replicación del DNA viral. Cuando se combina con un glucocorticoide asociado a su receptor, hace que el genoma viral replique mucho más que como lo haría en condiciones normales. Ésta es, al menos en parte, la explicación molecular del fenómeno clínico largamente observado que lleva a contraindicar la aplicación de glucocorticoides en infecciones por HSV, dado que las exacerba.

Replicación viral

Casi todas las líneas celulares conocidas, tanto epiteliales como conectivas, permiten la replicación viral. Lo mismo ocurre con los ratones neo-

natos, infectados por vía subcutánea, intracerebral o intraperitoneal y con la inoculación en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados, procedimiento que no se utiliza más.

Primeramente el virus interactúa con el receptor celular (que es el componente glucosaminoglicano del heparán sulfato) a través de sus glucoproteínas **gB** y **gC**. Luego, la glucoproteína **gD** interactúa con un correceptor celular que puede ser de tres tipos: uno perteneciente a la familia de un factor de necrosis tumoral (TNF), el segundo relacionado con el receptor para el virus polio y el tercero que es el heparán sulfato 3-O-sulfatado.

El virus fusiona su envoltura con la membrana plasmática y la nucleocápside, y las proteínas del tegumento ingresan al citoplasma celular y viajan hacia el núcleo en forma independiente a través del citoesqueleto. Las nucleocápsides se detienen en los poros nucleares, pierden la cápside y sólo ingresa al núcleo el DNA viral. Las proteínas del tegumento, en cambio, como no están contenidas en ninguna estructura, también viajan hacia el núcleo pero por otra vía. Entre estas proteínas hay que destacar a **VP-16**.

En el ciclo lítico, VP-16 interactúa con dos factores celulares: Oct-1 y HCF (*host cell factor*) y este complejo, combinándose con los genes alfa 0 y alfa 4, hace que se inicie la expresión del genoma viral en forma de "cascada", como se indicó antes. Se sintetizan así, en el citoplasma, proteínas tempranas reguladoras y proteínas tardías estructurales, que luego regresan al núcleo, donde ensamblan las nucleocápsides junto con el DNA replicado. Posteriormente, éstas migran a través del sistema de endomembranas y brotan hacia el exterior celular, donde obtienen la envoltura e infectan a otras células (fig. 25-2).

La consecuencia de esto es que las células infectadas por HSV mueren, presentando un efecto citopático característico que es un conjunto de cambios observables con el microscopio óptico, como la presencia de núcleos en "vidrio esmerilado" con la cromatina marginal, la existencia de cuerpos de inclusión, el redondeamiento celular y, a veces, la formación de sincicios. Estas alteraciones son fácilmente observables y orientan mucho un eventual **diagnóstico virológico rápido**.

Epidemiología

El hombre es el único **reservorio** de los HSV-1 y HSV-2, y existe un serotipo de cada uno de los virus mencionados, aunque se han descrito cepas mutantes.

Desde el punto de vista epidemiológico, aproximadamente el 70% de la población adulta de la

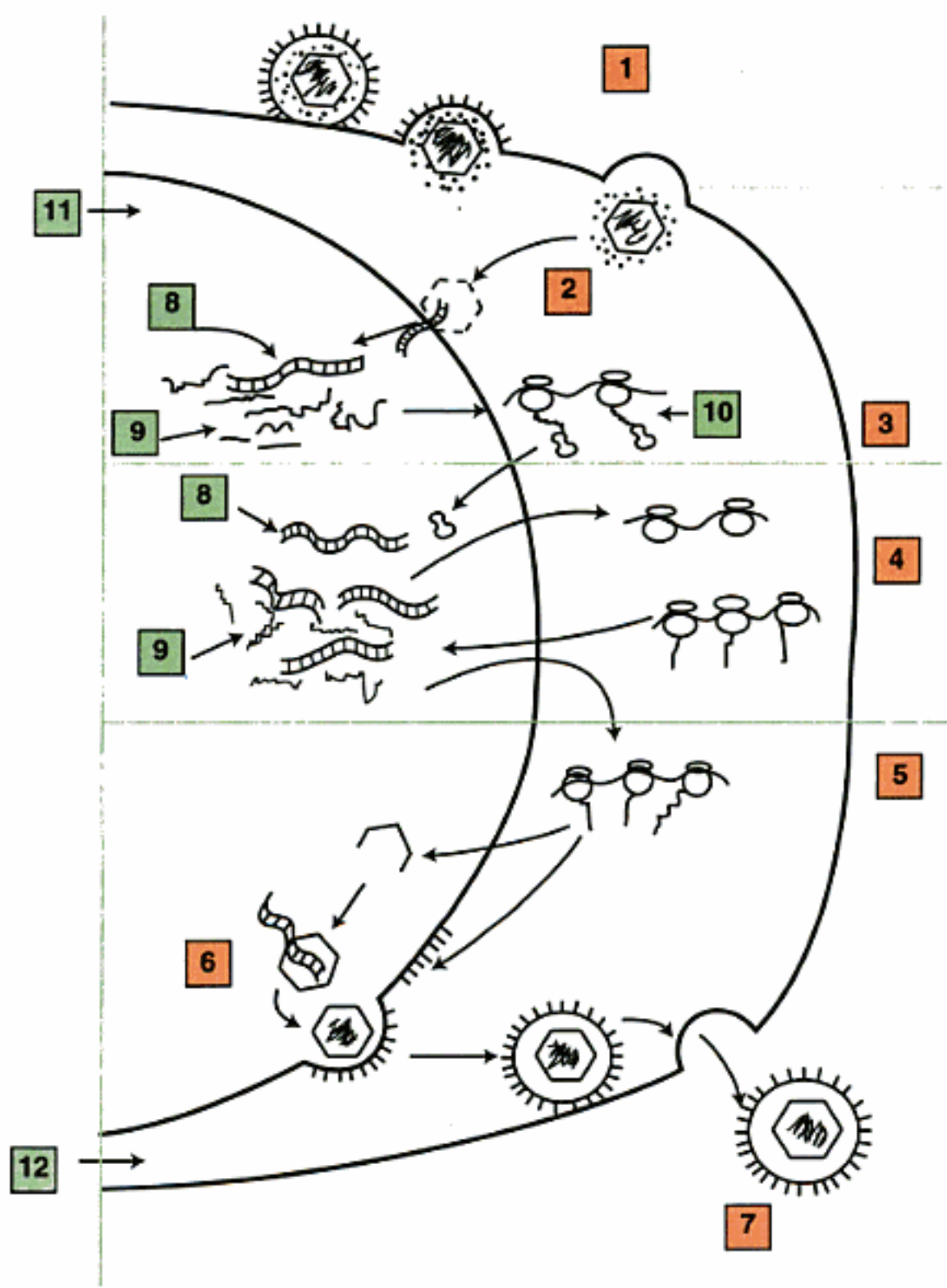


Fig. 25-2. Esquema de las principales etapas de la replicación de los virus herpes. 1. Adsorción y penetración. 2. Descapsidación. 3. Síntesis **inmediata temprana** de proteínas alfa. 4. Síntesis **temprana** de proteínas beta y replicación del DNA viral. 5. Síntesis **tardía** de proteínas gamma (proteínas estructurales). 6. Ensamblaje y maduración. 7. Liberación y exocitosis. 8. DNA viral. 9. RNAm. 10. Proteínas. 11. Núcleo celular. 12. Citoplasma celular.

ciudad de Buenos Aires y alrededores presenta anticuerpos contra esos virus, en coincidencia con lo reportado en otras grandes ciudades del mundo. Esto indica que aunque no se manifieste en forma clínica, la infección está muy extendida en la población. Si ese porcentaje fuera tomado como un 100%, el 80%, a su vez, correspondería a pacientes infectados con HSV-1 y el 20% a infectados con HSV-2.

La seroconversión para HSV-1 ocurre tempranamente en la infancia, mientras que la relacionada con la infección por HSV-2 ocurre a partir de la adolescencia y la juventud. Cabe citar que el concepto de que el HSV-1 es productor de infecciones bucales y el HSV-2 es agente de infecciones genitales es relativo, ya que se han detectado infecciones genitales por HSV-1 y lesiones bucales (en menor medida) producidas por HSV-2, dependiendo esto de los hábitos sexuales de cada persona.

La **transmisión** del virus ocurre por **contacto directo** entre un paciente infectado y otro que no lo está. En general, la transmisión se da desde el nacimiento hasta los 3 años de edad por pasaje del virus desde los padres o adultos cercanos al niño y ocurre porque el portador está eliminando virus desde las vesículas de una lesión labial o, en forma asintomática, a través de microvesículas no detectables clínicamente, pero que están repletas de virus. El virus penetra preferentemente por microtraumas presentes en la semimucosa labial o en la mucosa bucal, aunque puede también infectar por microlesiones presentes en la piel.

En este sentido, y en relación con la práctica médica u odontológica, es remarcable que, si bien es un virus envuelto, pudo observarse experimentalmente que es capaz de mantenerse infectivo en las telas utilizadas para la confección de chaquetas de uso médico durante varias horas, de tal forma que además de la transmisión directa interhumana, no debería descartarse la importancia de los fómites en la transmisión de esta enfermedad.

Patogenia y patología

Una vez alcanzado el epitelio bucal, el virus replica casi siempre en forma asintomática. La **primoinfección** pasa muchas veces inadvertida o subclínica, pero puede comprobarse por la existencia de anticuerpos específicos.

En otros casos, se presenta en forma sintomática provocando una **gingivoestomatitis herpética aguda**, con repercusión general. Antes de las manifestaciones bucales el niño se muestra irritable, inapetente, con dolor de cabeza y fiebre. Después aparecen bruscamente numerosas vesículas con contenido líquido transparente y agrupadas en ramillete en casi toda la boca, especialmente en



Fig. 25-3. Gingivoestomatitis herpética en una paciente de 2 años. Vesículas en los labios y en la zona peribucal.

labios, mucosa yugal, lengua, encías y paladar. A veces se manifiestan alrededor de la boca (fig. 25-3). Las vesículas intrabucales se rompen fácilmente y parecen aftas. Existen sialorrea, halitosis, dolor y tumefacción ganglionar. Al cabo de unos 10 días el proceso tiende a desaparecer espontáneamente. En algunos casos puede sobreinfectarse con bacterias (impétigo).

En cualquiera de las circunstancias mencionadas, sean éstas subclínicas o con manifestaciones locales, el virus replica en el epitelio y las vesículas están repletas de viriones; es decir, el virus puso en marcha el mecanismo de replicación descrito en el punto anterior.

Inmediatamente pasa a través de la lámina basal del epitelio y alcanza terminales nerviosas libres, en cuya membrana pierde la envoltura y viaja por los axones en forma de nucleocápsides hacia el núcleo de las neuronas ubicadas en el ganglio de Gasser del nervio trigémino (fig. 25-4). Allí co-

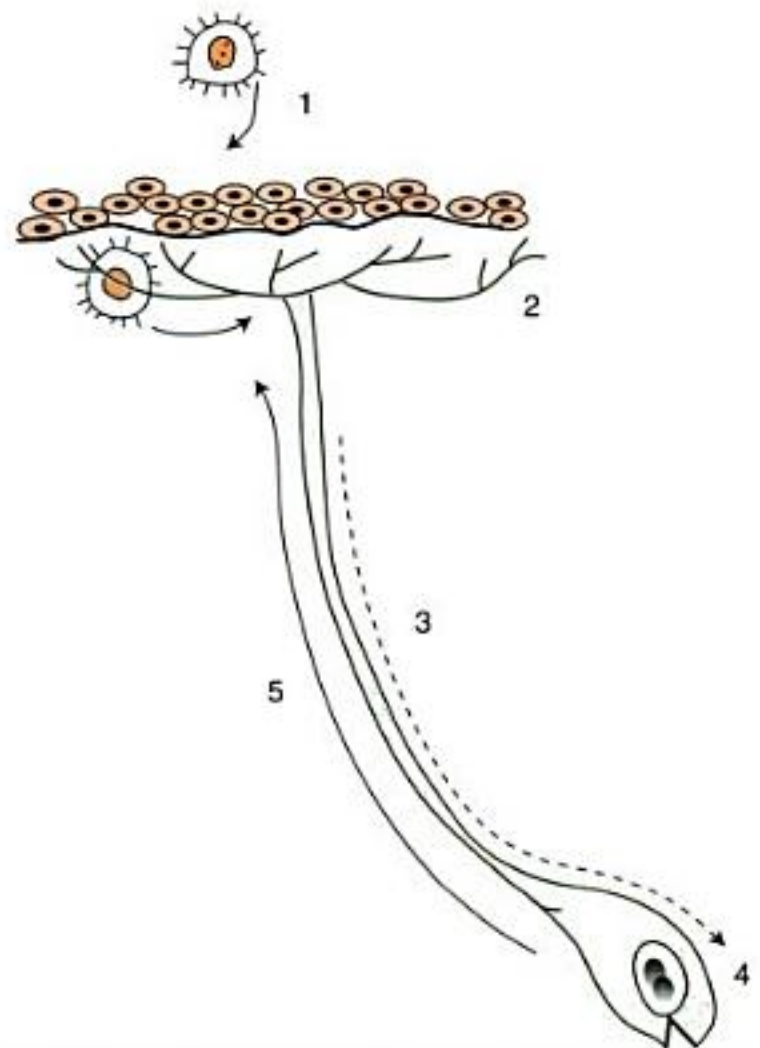


Fig. 25-4. Infección primaria y recurrente por HSV-1. 1. Ingreso del HSV-1 por la piel y las mucosas. Replicación en células epiteliales. 2. El HSV-1 alcanza las terminaciones nerviosas. 3. El HSV-1 accede al canal axónico neuronal y viaja por el espacio intraaxónico. 4. Latencia: en las neuronas del ganglio trigémino. Reactivación y síntesis de virus infecciosos. 5. Migración de los virus infecciosos hacia las células epiteliales.

mienza la segunda fase de la infección, denominada **latencia**. También es destacable que el virus no sólo puede infectar a las neuronas de los nervios sensoriales o periféricos, sino también del sistema nervioso autónomo.

Latencia

Desde el descubrimiento de los genes LAT pasaron muchos años sin que se supiera algo significativamente nuevo acerca de la latencia, hasta que recientemente comenzaron a aparecer publicaciones que permiten comprender mejor el fenómeno desde el punto de vista molecular.

Conceptualmente la **infección latente** se caracteriza porque el virus no replica en la neurona; su genoma se encuentra en forma episomal (es decir, circularizado y extracromómico) en el núcleo neuronal; no hay síntesis de proteína viral alguna y no hay expresión del genoma viral, con excepción de los genes LAT. Simultáneamente, desde el momento de su replicación en el epitelio bucal, el virus ha inducido una intensa **respuesta inmune** mediada por anticuerpos y por linfocitos T citotóxicos que, de no mediar algún mecanismo de inmunodepresión secundaria, permanecerán de por vida. Es decir, en última instancia la latencia es un complejo fenómeno evolutivo de evasión de la respuesta inmune por parte del virus.

A diferencia de lo que ocurre en las células donde el virus puede producir una infección lítica, en la neurona la proteína del tegumento VP-16 forma un complejo con dos factores celulares: Oct-1 y HCF que localizan a VP-16 en el citoplasma y evitan que vaya al núcleo e interactúe con los genes alfa para ordenar el comienzo del ciclo replicativo.

En definitiva, es la neurona la que frena la replicación viral, induciendo el fenómeno de latencia. Recientemente se describió una proteína ubicada en neuronas humanas denominada Zhangfei que tiene la propiedad de actuar sobre el complejo HCF-VP-16-Oct-1 impidiendo el pasaje del mismo del citoplasma al núcleo celular y, de esa forma, mantiene el estado no replicativo del virus.

Asimismo, se ha detectado que el genoma de HSV-1 puede codificar moléculas de microRNA. Estas moléculas se describieron como elementos regulatorios claves en la expresión de genes eucarióticos y en el genoma de virus que tienen DNA de doble cadena.

Otros mecanismos que estarían involucrados en el mantenimiento del estado de latencia son del tipo "epigenéticos" que controlan la funcionalidad de la cromatina, independientemente del control transcripcional y traduccional clásico y a través de

mecanismos, como la metilación de histonas asociadas al DNA viral.

Por lo tanto, son múltiples los factores que estarían involucrados en el fenómeno de latencia, pero todos ellos parecen ser celulares e inhibidores de los mecanismos de replicación de los HSV.

Recurrencias

En un porcentaje de pacientes infectados con HSV-1 o HSV-2 se observan periódicamente **recurrencias** clínicamente detectables.

La localización bucal más frecuente del **herpes recurrente** es la cara cutánea y/o la semimucosa del labio, por eso se denomina **herpes labial**. Puede haber signos precursores, como ardor, prurito, y dolor urente y localizado. Después aparece una agrupación de vesículas en ramillete, que contienen un líquido claro (fig. 25-5). Este cuadro puede durar pocos días y luego las vesículas se rompen, forman costras y, finalmente, se desprenden.

Con menor frecuencia existen formas intrabucuales, las lesiones son de aspecto erosivo parecidas a aftas recidivantes.

Cabe remarcar que en **toda infección viral** conocida en la que se producen vesículas, éstas contienen **virus infectantes**, no así las enfermedades virales que cursan con exantemas maculopapulosos, ya que estas lesiones cutáneas son consecuencia de fenómenos inmunológicos de reacciones entre antígenos y anticuerpos, y no contienen virus.

¿Cuál es la patogenia de las recurrencias? Se sabe que ante algunos estímulos inespecíficos, como el estrés, el frío o el calor aplicados a nivel local, las neurectomías (frecuentes en las extracciones dentarias), el ciclo menstrual y, sobre todo, la exposición a la radiación ultravioleta (como por ejemplo la luz del sol), el HSV se reactiva dentro



Fig. 25-5. Herpes labial recurrente. Vesícula en el labio superior. (Cortesía del doctor Rafael Gutiérrez.)

de la neurona. Esto ocurre porque el complejo VP-16-Oct-1-HCF se dirige al núcleo y, actuando sobre los genes alfa, induce su expresión. Como resultado de esto, se sintetiza DNA viral y proteínas, se forman nucleocápsides intraneuronales y se codifican glucoproteínas de la envoltura viral. No obstante, no hay ensamblaje de partículas virales maduras en las neuronas (no se sabe por qué), sino que el virus viaja a través de los microtúbulos del axón hacia el epitelio en forma de subunidades, que sólo formarán partículas completas en la célula epitelial inervada por ese axón.

Se establece así una nueva lesión con vesículas que contienen virus infectivos. Es interesante notar que las vesículas aparecen en el mismo sitio por donde el virus ingresó al organismo la primera vez y que no hay anestesia local, es decir, es evidente que la reactivación no lisa a la neurona sensitiva. No son conocidos los mecanismos moleculares por los cuales un factor inespecífico, como lo es el estrés, puede desencadenar una señal que le indique a la neurona que puede permitir la replicación viral. Como consecuencia de cada reactivación, la inmunidad humoral y la celular aumentan, eliminando a algunos virus en los epitelios, pero otros viajarán nuevamente hacia las neuronas donde permanecerán latentes de por vida. Esto quiere decir que los fármacos antivirales sólo actúan sobre las lesiones agudas, pero no eliminan al virus que está latente en las neuronas.

Existe un concepto ampliamente difundido pero que tiene bases experimentales y clínicas muy dudosas, y es el que plantea que las recurrencias ocurren por inmunodepresión. El hecho de que varios experimentos recientes hayan detectado que la disminución de la funcionalidad de los linfocitos T CD8+ haga que se facilite la replicación de los HSV no autoriza a suponer que esto ocurre en el ser humano ante las recurrencias. Diferente es el caso en el que un individuo previamente infectado con HSV adquiere un estado de inmunodepresión secundaria, como por ejemplo una infección por el virus de la inmunodeficiencia humana o una leucemia o un trasplante. En estos casos sí pueden observarse lesiones herpéticas diseminadas.

Las **complicaciones** que se observan luego de la infección por estos virus (además de la sobreinfección local por bacterias) son la **encefalitis herpética**, cuando el HSV-1 se reactiva pero en vez de migrar hacia el epitelio lo hace hacia los lóbulos temporales del cerebro por vía neural, y la **meningitis herpética**, que ocurre generalmente luego de una primoinfección genital por el HSV-2. En el primer caso el pronóstico es reservado, ya que la infección pone en riesgo la vida del paciente o deja secuelas neurológicas importantes. En el segundo,

en general se presenta como una meningitis a líquido cefalorraquídeo claro que cursa sin mayores complicaciones.

Diagnóstico de laboratorio

No es en vano insistir una y otra vez en que los diagnósticos microbiológicos que certifiquen una infección deben hacerse siempre que sea posible, al margen de la supuesta certeza del cuadro clínico.

Para realizar un **diagnóstico virológico** el paciente debe estar en el período en que se ven las vesículas, no después. Se realiza una antisepsia de la piel sobre la lesión y alrededor de ella con antisépticos comunes; se le explica al paciente lo que se le va a hacer, se toma una aguja estéril y se la clava en una vesícula sin tocar su fondo. Luego, usando el bisel filoso de la aguja se "destecha" la vesícula, lo que quiere decir que se corta la epidermis; finalmente, se raspa la base de la lesión suavemente y ese material se extiende sobre uno o varios portaobjetos (en este último caso deben usarse tantas agujas estériles como portaobjetos se empleen) y se distribuye en un área de aproximadamente 0,5 cm².

Esto puede hacerlo cualquier odontólogo con un costo económico mínimo para el paciente. Los portaobjetos se dejan secar a temperatura ambiente y luego, una vez rotulados, se los envía al laboratorio. Allí se los fija con metanol o con acetona y se practica sobre uno de ellos una simple coloración de Giemsa (fig. 25-6) que permite hacer el diagnóstico de herpes, sin diferenciar si es herpes simplex o varicela-zoster. Para determinar esto último, en los preparados restantes se realizan sendas técnicas de inmunofluorescencia indirecta que, en el término máximo de 3 horas, permiten llegar a un diagnóstico de certeza.

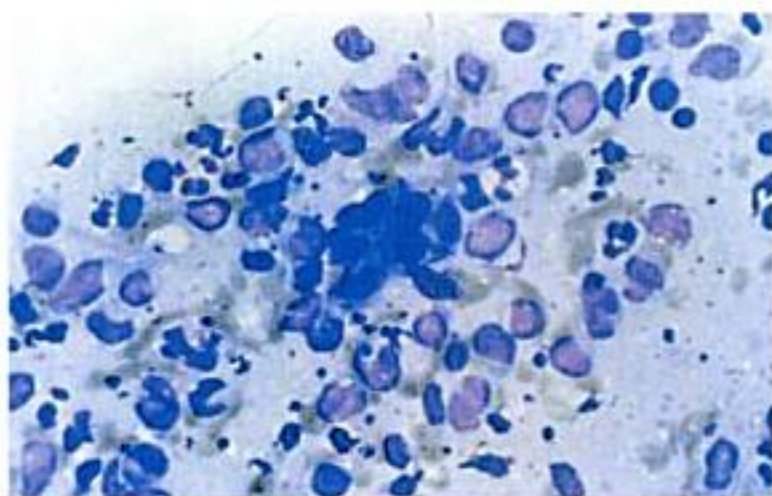


Fig. 25-6. Extendido del raspado de la base de una vesícula, coloreado con Giemsa. (Cúmulo de células con núcleos en "vidrio esmerilado".)

Lo mismo puede hacerse en el caso del **herpes genital**, aunque en las mujeres la toma de la muestra es más complicada, porque debe hacerlas el ginecólogo bajo control colposcópico y porque muchas lesiones genitales femeninas causadas por el HSV no se presentan como vesículas, sino que éstas ya se han roto como consecuencia del coito o de las duchas vaginales, observándose sólo áreas eritematosas o blanquecinas localizadas.

Es especialmente importante recordar que no siempre el herpes simplex se presenta en la forma clásica. A veces ocurren **queratoconjuntivitis herpéticas** o **lesiones oftalmocutáneas** que son difíciles de distinguir de, por ejemplo, un zoster oftálmico provocado por el virus varicela-zoster. De allí la importancia de tener en cuenta la posibilidad de hacer un diagnóstico virológico rápido de certeza. El cultivo en células no se emplea y menos aun la inoculación en animales.

En el caso de existir un diagnóstico presuntivo de **encefalitis herpética** pueden practicarse una reacción de PCR en el líquido cefalorraquídeo o una biopsia cerebral dirigida, sobre la cual se detectarán antígenos virales por inmunofluorescencia o por inmunoperoxidasa.

Finalmente, en la actualidad puede discriminarse una infección por **HSV-1** de otra causada por **HSV-2** por serología, con métodos de ELISA, donde se han adsorbido al soporte glucoproteínas G de uno u otro virus.

Profilaxis

Evitar el contacto con material infectante es la mejor profilaxis (uso de preservativos para controlar una infección por HSV-2 o de guantes en odontología). Esto último puede prevenir el contagio de infecciones en los dedos o panadizo herpético (fig. 25-7).

Recordemos que, a pesar de que ambos virus presentan reacciones inmunológicas cruzadas, la



Fig. 25-7. Panadizo herpético en un odontólogo.

primoinfección por HSV-1 no protege contra una posterior infección con HSV-2.

No existen vacunas disponibles contra ninguno de los dos HSV. Esto se debe a que no podrían emplearse vacunas con virus inactivados (y menos aún con virus atenuados), porque sería peligroso inyectar virus latentes (que también tienen propiedades oncogénicas in vitro) cuando la naturaleza de la latencia no es conocida.

Las vacunas preparadas por ingeniería genética, utilizando sólo algunos antígenos virales, están en fase de experimentación, pero es muy complejo inducir un determinado tipo de respuesta inmune protectora cuando ella misma es desconocida en detalle.

En pacientes con recurrencias muy frecuentes puede indicarse el tratamiento sistémico continuo con acyclovir u otros fármacos, pero esto debe ser controlado por un médico infectólogo.

VIRUS VARICELA-ZOSTER

Características básicas

Como todo virus herpes, el varicela-zoster posee una envoltura, un tegumento y una nucleocápside icosaédrica que contiene DNA bicatenario. El genoma (unos setenta genes) comparte cuarenta de ellos con alguno de los restantes herpesvirus. La estructura del genoma es similar a la del herpes simplex, es decir, puede circularizarse. Las glucoproteínas de envoltura necesarias para el ingreso a la célula son gB, gH y gL. No existe en el virus varicela un equivalente a la glucoproteína D del HSV, por lo cual se supone que no utiliza correceptores. El receptor celular para el virus varicela no es conocido. Las proteínas codificadas por los marcos abiertos de lectura ORF 4, ORF 10 y ORF 62 son críticas para iniciar la fase de lisis. Existe un solo serotipo, que puede infectar fibroblastos humanos, desarrollando un efecto citopático bastante lento.

Patogenia y patología

La infección ocurre por **vía inhalatoria**, a partir de las gotas de Pflügge y de la aerosolización de las costras secas. La enfermedad es extremadamente **contagiosa**. El virus replica inicialmente en las fauces y los ganglios linfáticos satélites, realiza una primera viremia donde infecta a los órganos del sistema reticuloendotelial y luego una segunda viremia que alcanza a los restantes órganos incluida la piel, donde se observan células con el típico efecto citopático de formación de

cuerpos de inclusión intranucleares, sincicios y redondeamiento.

El período de **incubación** dura aproximadamente 15 días (en los últimos de los cuales el paciente es contagioso porque tiene virus en las fauces, sobre todo en el paladar blando).

Luego aparecen máculas y pápulas que evolucionan a vesículas en 24 hs. Estas últimas están repletas de virus, pueden ser escasas (5-6 elementos) o numerosas y aparecen en cualquier parte del cuerpo, incluso en el cuero cabelludo. Luego pasan a costras en otras 24 hs y perduran en este estado entre 8 y 10 días. Este brote (que comienza luego de un pico febril) se acompaña de un segundo brote similar (y eventualmente de un tercero), de tal manera que en un mismo momento el **exantema variceloso** presenta máculas, pápulas, vesículas y costras. Esto es importante en el diagnóstico y se lo denomina **polimorfismo**. En la mucosa bucal hay vesículas parecidas a las de la piel que se erosionan con facilidad (**enantema**). El paciente puede contagiar hasta el tercer día posterior al comienzo de las costras.

Las **complicaciones** más importantes son la neumonía viral primaria o la neumonía bacteriana que puede desarrollarse hasta 20 días después de haber padecido varicela. El virus es inmunode-

presor, porque puede replicar en monocitos y linfocitos. La bacteria más frecuentemente asociada a neumonías posvaricelosas es el *Staphylococcus aureus*.

Cabe citar que el curso evolutivo de una varicela en un paciente adulto es, en general, mucho peor que en un niño, razón por la cual los agentes de salud, entre ellos los odontólogos, deberían tener la certeza de haber padecido la enfermedad cuando eran niños (cuantificable por serología) o vacunarse antes de comenzar con sus prácticas profesionales.

El virus hace **latencia** en las neuronas y en las células satélites de los ganglios raquídeos y del ganglio de Gasser. Luego de un cuadro de inmunodepresión (consecutivo a la edad, o debido a linfomas o leucemias) puede reactivarse, en general sólo una vez, avanzar por un dermatoma y producir el cuadro denominado **herpes zoster**, generalmente en la zona intercostal. Aunque también puede ser **oftálmico** o afectar el recorrido de las otras dos ramas del nervio trigémino (fig. 25-8). Luego de la enfermedad el paciente puede padecer una **neuritis posherpética** muy dolorosa y de difícil tratamiento.

El paciente con zoster contagia eventualmente a otro, porque las vesículas contienen virus viables. Por lo tanto, puede ser una fuente de varicela para las personas carentes de inmunidad frente a esta infección (ej.: niños).

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de laboratorio de certeza más usual es la detección de antígenos virales por inmunofluorescencia indirecta en células obtenidas por raspado de la base de las vesículas.

No se recurre a cultivos celulares y sí puede detectarse la seroconversión con el aumento en más de una dilución del título de anticuerpos IgG entre la primera muestra obtenida y la segunda, a los 15 días. También puede titularse la IgM específica en la fase aguda.

Para detectar una infección pasada puede dosarse Ig específica.

Profilaxis

Existe una **vacuna** (la vacuna de Oka) de virus atenuados y aplicación subcutánea, que está indicada para prevenir la enfermedad tanto en la población general cuanto en pacientes inmunodeprimidos, si es que existiera un brote de varicela, por ejemplo, en una unidad de pacientes transplantados. El acyclovir es efectivo, tanto en el tratamiento de la varicela como en el del zoster.



Fig. 25-8. Herpes-zoster (tercera rama del trigémino). (Cortesía del doctor Rafael Gutiérrez.)

VIRUS EPSTEIN-BARR

Características básicas

En la década de los años cincuenta Burkitt, un cirujano inglés que trabajaba en África, describió la existencia de linfomas en niños con compromiso mandibular y envió muestras de tejidos a Barr y a Epstein, quienes, por microscopía electrónica de transmisión, visualizaron un virus en los tumores. Ese virus tenía todas las características principales de los miembros de la familia *Herpesviridae*. El hecho de encontrar partículas virales en neoplasias inducidas por virus es extremadamente inusual. Este agente infeccioso fue cultivado en linfocitos B humanos, a los cuales sistemáticamente inmortaliza y transforma in vitro.

Patogenia y patología

El hombre es el único **reservorio** de este virus, del cual sólo se conoce un serotipo. Se postula que se transmite por cantidades relativamente importantes de **saliva**, provocando una enfermedad denominada **mononucleosis infecciosa**. En realidad, este último concepto ha sido cambiado recientemente por el de **síndrome mononucleosiforme**, ya que, según algunos autores, la infección por los virus Epstein-Bar, citomegalovirus, virus de inmunodeficiencia humana, rubéola y la Toxoplasmosis presentan un cuadro clínico similar durante su fase aguda.

Si bien hay similitudes entre las enfermedades mencionadas, la escuela semiológica argentina plantea la posibilidad de realizar diagnósticos diferenciales entre esas entidades nosológicas si el interrogatorio, el examen físico y los métodos complementarios son analizados detenidamente.

El concepto de **transmisión** de esta infección a través de la **saliva** se sustentó en que la mononucleosis infecciosa se detectaba a partir de la adolescencia y la juventud, y, por ese motivo, se la denominó **enfermedad del beso**. No obstante, recientemente se detectaron numerosos casos de mononucleosis infecciosa en niños pequeños, lo que pone en duda ese supuesto mecanismo de transmisión.

Se acepta que, luego de un **período de incubación prolongado** (30-50 días), el virus replica en el epitelio faringoamigdalino y luego infecta a linfocitos B vírgenes ubicados en las estructuras linfoides denominadas "anillo de Waldeyer". El genoma viral se expresa en varios "**programas**". En el linfocito B virgen se desarrolla el **programa de "crecimiento"**, con la expresión de los seis genes EBNA (antígenos nucleares de Epstein-Barr) y los genes LMP (*late membrane protein*), LMP-1, LMP

2A y LMP 2B bajo el control del factor de transcripción EBNA 2. El linfocito B virgen se transforma así en linfocito B de memoria y por acción de LMP-1 y LMP-2 forma centros germinativos.

En este linfocito el virus desarrolla el **programa de "default"**, donde sólo expresa EBNA 1, LMP-1 y LMP-2. El linfocito pasa a la circulación y el virus entra en estado de **latencia**, donde no expresa gen alguno, mientras su genoma está circularizado. Cuando el linfocito B se divide, el virus sólo expresa EBNA-1 y estas células son atacadas por linfocitos T citotóxicos y, por su morfología, se denominan "células de Downey". Estas células no son propias de la mononucleosis infecciosa, sino que también pueden verse en otras virosis como sarampión o rubéola, pero cuando se las encuentra asociadas a linfocitosis y con un cuadro clínico compatible hacen sospechar el diagnóstico de mononucleosis.

Por último, cuando el linfocito se diferencia en plasmocito, en el tejido linfoide amigdalino produce antígenos tardíos (VCA, antígeno de la cápside viral) y ensambla partículas virales infecciosas que pasan a la saliva.

Manifestaciones clínicas

El paciente presenta adenomegalias múltiples (a predominio occipital), esplenomegalia (que es la que marca la necesidad de indicar reposo al paciente) y hepatitis (medida por marcadores enzimáticos). También puede presentar exantema e ictericia. Se asocia a esto fiebre, una importante astenia (cansancio) y una **faringitis** que puede ser **seudomembranosa** simulando un cuadro de difteria. En general, la enfermedad evoluciona sin mayores complicaciones.

El virus ha sido asociado al carcinoma nasofaríngeo, al linfoma de Burkitt, a la enfermedad de Hodgkin (variedad celularidad mixta) en niños, y a algunos otros linfomas y neoplasias, pero en forma dudosa.

Diagnóstico

Actualmente se realiza por una **prueba de aglutinación**, derivada de la antigua reacción de Paul Bunnell-Davidson, con el suero del paciente y glóbulos rojos de caballo (*monotest*), para detectar anticuerpos heterófilos.

Además, puede realizarse la detección por inmunofluorescencia indirecta de IgM e IgG específicas contra VCA. Es conveniente completar el estudio serológico con la titulación, además, de IgM e IgG contra antígenos EBNA.

Desde el punto de vista clínico, la asociación de faringitis con un eventual componente pseudomem-

Preguntas de revisión

1. ¿En qué subfamilias se subdividen los herpesvirus?
2. ¿Qué características comunes tienen dichos virus?
3. ¿Qué virus herpes simplex conoce y cuál provoca manifestaciones bucales?
4. ¿Por qué vía penetra el herpesvirus?
5. ¿Qué factores facilitan las recidivas?
6. ¿Cuál es la primera manifestación de la infección por HSV tipo 1?
7. ¿Cuál es la fuente de infección?
8. ¿Qué métodos de diagnóstico puede citar?
9. ¿Cuál es la vía de penetración del virus varicela-zoster?
10. ¿A qué se debe la reactivación de dicho virus y qué aspecto clínico produce esa reactivación?
11. ¿Por qué vía se adquiere la primoinfección por CMV?
12. ¿Dónde queda latente la infección por CMV?
13. ¿Qué reservorio del CMV puede citar?
14. ¿Qué métodos para diagnosticar la infección por CMV conoce?
15. ¿Qué provoca el virus de Epstein-Barr?
16. ¿Qué manifestaciones clínicas genera?
17. ¿Qué complicación puede inducir el virus EB?
18. ¿Qué fuentes de infección del virus EB conoce?
19. ¿Qué método de diagnóstico puede citar?
20. ¿Qué puede provocar el HHV-6?
21. ¿Con la patogenia de qué lesión está relacionado el HHV-8?
22. ¿Qué fuentes de infección del HHV-8 conoce?

BIBLIOGRAFÍA

- Brusca M, González MI, Rosa AC, Sanjuan N. Herpes simplex virus survival on fabrics and its transference to dental practice. *J Dent Res*, 2003; 82(Spec Iss C):C-50.
- De Regge N. & Herpesvirus glycoprotein D interaction with sensory neurons triggers formation of varicosities that serve as virus exit sites. *JBC*, 2006; 174(2): 267-75.
- González MI, Rubinstein N, Ilarregui JM, Toscano MA, Sanjuan NA, Rabinovich GA. Regulated expression of galectin-1 after *in vitro* productive infection with herpes simplex virus type 1: implications for t-cell apoptosis. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol*, 2005; 18(4):615-23.
- Ramella MR. Herpes virus. En: Negroni M. *Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. 1ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1999; pp. 393-404.
- Roizman B, Pellet PE. The family *Herpesviridae*: A brief introduction. In: *Fields virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkin, 2001; pp. 2381-97.
- Roizman B, Knipe DM. Herpes simplex viruses and their replication. In: *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkin, 2001; pp. 2399-459.
- Sanjuan NA, Lascano EF. Autonomic nervous system involvement in experimental genital infection by herpes simplex virus type 2. *Arch Virol*, 1986; 91:329-39.
- Thorley-Lawson DA, Gross A. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas. *N Engl J Med*, 2004; 350:1328-37.
- Whitley RJ. Herpes simplex viruses. In: *Fields virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkin, 2001; pp. 2461-509.

INFECCIONES VIRALES

2º PARTE

VIRUS PAPILOMA HUMANO (HPV)

María Rosa Ramella, María Inés González y Norberto Sanjuan

Contenidos

Virus papiloma humano (HPV). Características básicas. Patogenia y patología. Manifestaciones clínicas. ¿Cuál es la importancia de los HPV en Odontología? Diagnóstico de laboratorio. Profilaxis.

Objetivos

Describir la etiopatogenia, las manifestaciones clínicas, la epidemiología, el diagnóstico, la profilaxis y las implicancias odontológicas de las enfermedades producidas por papilomavirus.

VIRUS PAPILOMA HUMANO (HPV)

Durante el siglo XIX se realizaron varios experimentos con seres humanos, por los cuales se demostró que la inoculación de extractos de verrugas de un paciente a un receptor sano inducía en éste la aparición de verrugas luego de pocos meses. Esos ensayos, que hoy serían imposibles de realizar por violar normas elementales de ética, fueron confirmados por la transmisión de lesiones similares entre conejos, lo que llevó al concepto de una etiología infecciosa de las verrugas tanto de las cutáneas como de las genitales.

Características básicas

Los HPV pertenecen a la familia *Papillomaviridae*; son virus desnudos, icosaédricos y de pequeño tamaño (55 nm de diámetro), que contienen DNA bicatenario circular, del cual una sola de las cadenas es codificadora de proteínas.

El **genoma** se divide en tres partes: una región temprana, que codifica a las proteínas reguladoras E1, E2, E4, E5, E6 y E7; una región tardía, que se expresará como las proteínas estructurales L1 y L2; y una tercera región no codificadora que regula la replicación viral y la expresión génica.

El virus es difícil de cultivar *in vitro* y sólo recientemente pudo obtenerse progenie viral en **cultivos primarios** de queratinocitos humanos. Los datos relacionados con la patogenia de HPV provienen de estudios realizados con ratones transgénicos, es decir, animales a los que se les ha in-

troducido los distintos genes de HPV bajo el control de promotores específicos o con cultivos organotípicos que intentan reproducir *in vitro* estructuras parecidas a una mucosa. A esto se suman las observaciones realizadas en especímenes anatomopatológicos de piezas de pacientes obtenidas quirúrgicamente. Como se comprenderá, estos procedimientos no son muy precisos como para comprender en profundidad los mecanismos que llevan a la inducción de verrugas o, eventualmente, de carcinomas epidermoides por los HPV.

Existen más de cien tipos de HPV humanos. Nótese que se habla de "**tipos**" y no de "serotipos", ya que la clasificación de estos virus se basa en la secuenciación del gen estructural L1. Cuando éste tiene una diferencia de más del 50% de las bases con los genes L1 conocidos, se está en presencia de un nuevo tipo viral. En cambio, los "serotipos" serían eventualmente grupos de virus caracterizados por sueros específicos, cosa que no ocurre con el HPV.

Estos virus pueden tener **tropismo** por la piel o por las mucosas y, además, se los considera de "**alto grado**" o de "**bajo grado**" de malignidad según si están asociados a lesiones proliferativas benignas (condilomas o verrugas) o malignas, como los carcinomas epidermoides. La mayoría de los datos obtenidos en la actualidad provienen del estudio de los HPV asociados al **carcinoma del cuello uterino** por razones de importancia médica y epidemiológica. No obstante, muchas de esas consideraciones son extrapolables a las lesiones producidas por estos virus en la mucosa bucal.

Patogenia y patología

Se pondrá por ejemplo una infección genital por HPV. El portador del virus es un hombre que tiene lesiones muy probablemente microscópicas (pequeños papilomas) en la mucosa del glande y la receptora será una mujer que no estaba previamente infectada. Esta situación puede ocurrir mayoritariamente cuando el hombre no usa preservativos. Si bien la infección del cuello uterino por HPV es por **contacto genital directo**, se acepta en diversos medios clínicos que en una cifra aproximada al 20% de los casos el contagio genital es altamente dudoso; en su lugar puede estar implicada la utilización de **fómites** contaminados con el virus, en especial el instrumental ginecológico no descartable o mal esterilizado.

Los virus de "**alto grado**" involucrados en esta infección serán el **HPV 16**, el **18** o el **31**. A través de **microtraumas** producidos en la mucosa del cuello uterino durante el coito o, probablemente, por el acceso directo del virus a la "zona de transición" entre el epitelio pavimentoso estratificado del exocervix y el epitelio cilíndrico simple del endocervix, el virus llega a la capa basal del epitelio, que es la única capa proliferativa.

Se desconoce el receptor celular específico para el HPV, pero se sospecha el compromiso de la integrina $\alpha 4\beta 6$. Una vez alcanzado el núcleo de las células basales del epitelio, el genoma viral permanece en forma episomal, es decir, circularizado y no integrado al genoma celular.

A partir de allí el virus va a madurar con la diferenciación de esas células hasta su estadio de queratinocitos terminales, donde va a replicar haciendo que las células más superficiales se transformen en coilocitos. Éstos tienen una forma particular, con vacuolización perinuclear, núcleo excéntrico, irregular y picnótico, y aspecto en "empedrado" cuando se los observa en el contexto de un epitelio y no como células aisladas. El virus no es lítico, es decir, no producirá el estallido de la célula infectada, sino que contagiará a otra persona (o a otro sector del cuello o del canal vaginal) por desprendimiento de esos coilocitos y su contacto posterior con el epitelio no infectado.

Las bases moleculares más importantes de este fenómeno involucran a varios genes virales. Por ejemplo, las proteínas codificadas por los genes E1 y E2 son críticas para la replicación del DNA viral, E4 se asocia a los filamentos intermedios de citoqueratina y los desestabiliza, lo que facilita la liberación de partículas virales. E2 también asocia a los genomas virales con los cromosomas celulares en mitosis, lo que garantiza que esos genomas no se pierdan durante la división celular. Por último, L1 y L2 son las proteínas estructurales que terminarán el proceso de maduración del virus.

Hasta aquí se ha descrito una **infección productiva**, cuyo final es la formación de partículas virales infectivas. Pero algunas cepas de **HPV (16, 18, 31**, por ejemplo) inducen transformación celular. Si bien no es lo mismo **transformación celular** que **oncogénesis**, para ser más claros en este capítulo se tomarán ambos términos como sinónimos. Para comprender mejor cómo algunos HPV pueden ser oncogénicos mientras que otros sólo inducen la aparición de neoplasias benignas, como las verrugas, debe recordarse someramente algunas de las características que hacen que las células permanezcan **normales** y no se transformen en células neoplásicas.

En las células normales existen genes denominados **proto-oncogenes** que intervienen en mecanismos variados, tales como la cicatrización de heridas, el desarrollo embrionario, etc., es decir, tienen una expresión fisiológica. Cuando por factores químicos o físicos esos proto-oncogenes mutan, se transforman en **oncogenes**, cuya expresión está asociada al fenómeno de transformación celular.

Al mismo tiempo existen genes celulares con funciones opuestas a la de los oncogenes y, por esa razón, inicialmente se los denominó incorrectamente "anti-oncogenes" y, más precisamente después, **genes supresores de tumores**. Entre ellos se encuentran el que codifica para una proteína denominada **p-53** y otro que codifica la síntesis de la proteína **pRB**.

Conceptualmente, **p53** actúa controlando la indemnidad del DNA celular. Si éste se altera por cualquier motivo, p53 pone en marcha un complejo mecanismo que llevará a la muerte celular por apoptosis. De esta forma, evita que ese DNA mutado o "anormal" siga existiendo. Nada mejor para comprender esto que recordar lo que ocurre cuando en un día de actividad bajo el sol se recibe un exceso de radiación ultravioleta (como por ejemplo el permanecer en una playa sin utilizar protector solar). El sentido común indica que en pocos días esa piel se descamará. Ha sido p53 la que, habiendo detectado una sobredosis de radiación dañina, determinó la muerte de grandes colgajos de epitelio por apoptosis.

En forma similar **pRB** normalmente controla que la célula no ingrese permanentemente al ciclo celular. Por último, el tiempo de vida de una célula está en parte determinado, porque con cada mitosis se pierden secuencias cortas de DNA ubicadas en los extremos de los cromosomas y que forman parte de estructuras denominadas **telómeros**. Así, cuando la célula se queda sin telómeros, muere. Pero existe una enzima, denominada **telomerasa**, que es capaz de reponer el DNA faltan-

te en los telómeros y que, como era esperable, está expresada en las neoplasias. Habiendo hecho esta breve introducción, es posible que se entienda mejor cómo hacen los tipos altamente oncogénicos de HPV para transformar una célula.

Se ha dicho antes que en el ciclo productivo del HPV el genoma viral se encuentra en bajo número de copias en el núcleo de las células basales y en forma episomal, aunque este estado es variable. Por factores desconocidos, en un momento de esa relación entre el virus y la célula el primero provoca la **integración de su genoma** al genoma celular. Esto ocurre al azar, pero muy frecuentemente se observa esa inserción cercana a los denominados "sitios frágiles" cromosómicos, que son sectores del DNA celular que tienden a romperse con más facilidad que otros, y provocar un fenotipo mutado.

En todo caso, en los **HPV de alto grado de malignidad** la inserción al genoma celular se hace a través del gen viral E2. Cuando ese genoma se integra, E2 sufre deleciones que lo inactivan. Normalmente, en el epitelio cervical, E2 actúa inhibiendo la expresión de los genes virales E5, E6 y E7. Estos genes, ya fuera del control normal de E2, se comportan como **oncogenes**.

El gen E6 se asocia a la proteína p53 y, luego de acoplarla a ubiquitina, la hidroliza a través del proteasoma celular. Simultáneamente E6 activa la transcripción de la enzima telomerasa. Al mismo tiempo E7 se une a la proteína pRB e inhibe su función. Como consecuencia, los mecanismos de transformación celular inducido por las cepas altamente oncogénicas de HPV actúan, por una parte, destruyendo a p53 y permitiendo entonces la acumulación de DNA mutado; también por activación de la telomerasa, lo que lleva a la célula a la inmortalización y, además, inhibiendo a uno de los controles del ciclo celular, con lo que una célula inmortalizada y con mutaciones en su DNA entra permanentemente en el ciclo celular. Es decir, en conjunto actúan produciendo **inestabilidad genética**.

Este proceso puede tomar mucho tiempo. A modo de ejemplo puede citarse que, desde que se realiza el diagnóstico de certeza de infección por HPV en el cuello uterino de una paciente hasta que aparece un carcinoma in situ, transcurren aproximadamente 10 años, y sólo el 10% de las pacientes infectadas con HPV 16, 18 o 31 desarrollarán carcinomas de cuello uterino.

Es evidente, entonces, que existen **otros factores** involucrados en la patogénesis de neoplasias inducidas por HPV. Mucho se ha asociado esta enfermedad al hábito de fumar, a la ingesta excesiva de alcohol (sobre todo en las lesiones bucales), etc., pero en el caso del cáncer de cuello uterino, el

cofactor que parece ser más importante sobre la base de los resultados experimentales con que se cuenta es el sinergismo entre la infección con HPV y la administración continua de estrógenos, aun a bajas dosis.

La respuesta inmune en los casos de infecciones del tracto genital por HPV varían en cada paciente, pero, en general, no es suficientemente efectiva para erradicar la infección.

¿En qué se diferencian las cepas altamente oncogénicas de HPV de las no oncogénicas? Básicamente en que las secuencias de sus genes E6 y E7 no son similares y, por consiguiente, en las cepas no oncogénicas esos genes intervienen en el ciclo productivo del virus, pero no degradan a p53 ni a pRB.

Manifestaciones clínicas

Las **verrugas cutáneas** (provocadas por los tipos 1 al 4) afectan superficies queratinizadas de las manos y los pies, las **verrugas anogenitales** (también llamadas "**condilomas acuminados**", causadas por los tipos 6 y 11), la **papilomatosis laríngea**, que se observa aun en la infancia y la adolescencia asociadas al HPV 11 y los **papilomas invertidos**, que se desarrollan en el interior de los senos paranasales, hablan de una multiplicidad de sitios del organismo en los cuales el virus puede estar presente y, aunque muchas de esas lesiones involucionen espontáneamente por la probable acción de la respuesta inmune, el virus puede seguir estando en los sitios donde desarrolló esas patologías. Es particularmente importante **no irradiar** lesiones papilomatosas en la laringe en adolescentes sin un adecuado diagnóstico histopatológico, dado que en ese caso las que inicialmente eran cuadros benignos terminarán siendo carcinomas epidermoides en adolescentes de 14 o 15 años, que requerirán de cirugías con criterio oncológico y que acarrearán consecuencias inaceptables desde todo punto de vista.

¿Cuál es la importancia de los HPV en Odontología?

Aparte de ser considerados como agentes necesarios (pero no suficientes) para el desarrollo de neoplasias del cuello uterino, existen cepas de HPV involucradas en la patogénesis de lesiones tanto benignas como malignas de ubicación cutáneo-mucosa o de importancia estomatológica.

Es importante recordar que estos virus se contagian por **vía directa**, es decir, por contacto interpersonal estrecho, por **autoinoculación** o a través de **fómites**.

Al ser un virus sin envoltura, presenta resistencia a la acción de detergentes o de solventes orgánicos y sólo puede ser eliminado por una adecuada esterilización o por concentraciones elevadas de hipoclorito de sodio en solución acuosa (lavandina).

En la cavidad bucal el HPV ha sido asociado con:

- **Verrugas vulgares** (HPV tipo 2). Son lesiones comunes en la mucosa bucal y con frecuencia se localizan en la piel y borde de los labios.
- **Condilomas acuminados** (HPV tipos 6 y 11). Esta afección, que puede adquirirse por autoinoculación de un condiloma acuminado genital o durante la práctica de sexo oral, suele manifestarse en el dorso de la lengua, en los labios, en la mucosa bucal, en la encía y en el paladar (fig. 25-9).
- **Hiperplasia epitelial focal o enfermedad de Heck** (HPV tipos 13 y 32). Se trata de una lesión benigna. Generalmente, se manifiesta en niños y se localiza en el labio inferior, la mucosa bucal y la lengua.
- En los últimos años también se lo relacionó con **lesiones premalignas** (HPV tipos 16 y 18) y con **carcinomas invasivos** de células escamosas (HPV tipo 16).



Fig. 25-9. HPV. Condiloma acuminado en la mucosa yugal. (Cortesía del doctor Rafael Gutiérrez.)

Diagnóstico de laboratorio

El procedimiento más certero de diagnóstico es la **biopsia** y el **estudio histopatológico**. Las características morfológicas son tan precisas que, en la mayoría de los casos, no requieren de procedimientos adicionales, al menos para establecer un diagnóstico individual.

Si, no obstante, se deseara confirmar el diagnóstico por métodos virológicos, es evidente que **ni el cultivo ni la serología aportarán algo**. Debería recurrirse a la toma de una muestra de tejido de donde poder extraer el **DNA viral** y someterlo a la técnica de **PCR** con *primers* conocidos o, luego de procesados histológicamente, realizar **hibridación in situ de DNA**.

Los métodos de detección de antígenos de HPV por inmunocitoquímica, que estuvieron tan en boga en la década de los años ochenta no son útiles, ya que presentan un 50% de resultados negativos falsos. Esto se entiende de la comprensión de la patogenia de la enfermedad: pueden existir lesiones producidas por virus integrados, que no ensamblan y, sin embargo, están en la lesión y que no podrán ser detectados si lo que se busca son sus antígenos estructurales tardíos.

Profilaxis

En el caso del HPV genital está indicado el uso de preservativos. Recientemente se ha introducido una **vacuna** recombinante que está indicada antes de la adolescencia y cuyos resultados parecen promisorios para prevenir la infección genital, aunque hasta hoy es muy cara.

Se están desarrollando “vacunas terapéuticas” que modifican a los oncogenes virales y estarían destinadas a los pacientes (especialmente mujeres) que ya presentan alteraciones preneoplásicas de cuello uterino.

Desde el punto de vista odontológico, es importante evitar la autoinoculación y el contacto directo con lesiones probablemente infectadas con el virus, así como la **correcta esterilización del instrumental** a utilizar para evitar la diseminación de enfermedades que, por lo demás, son prevenibles en muchos casos.

ciones genéticas en hasta el 20% de los aislamientos, existe un solo serotipo viral.

La cápside es resistente a los ácidos, a los detergentes y a las sales biliares, y se mantiene estable incluso en el tracto intestinal. El virus también mantiene la infectividad durante largos períodos en los pozos de aguas residuales y en el agua depurada inadecuadamente (cuadro 25-2).

El hombre es el hospedador natural de este virus. Otros primates (entre ellos los chimpancés y los monos títí) son susceptibles a la infección experimental.

Patogenia

El HVA se adquiere por la **ingesta** de alimentos o de agua contaminados con materia fecal humana. Sin embargo, la transmisión interpersonal a través de **fómites** es más frecuente que la mediada por el agua. En las ciudades que tienen servicios de potabilización de aguas es difícil la transmisión por este medio, pero basta, por ejemplo, con almorzar en un bar en el que el lavacopas esté eliminando virus por materia fecal en forma todavía asintomática, para ingerir a esos agentes infecciosos, aunque el lavacopas se haya lavado las manos con agua y jabón luego de defecar.

El período de incubación es de 4 semanas y es probable que el virus llegue a la circulación sanguínea a través de la bucofaringe o el revestimiento epitelial del intestino para alcanzar el hígado.

La estabilidad de la cápside permite que el virión sobreviva en su tránsito por el estómago y el intestino. El virus atraviesa estas barreras y se une a los receptores de las células del parénquima hepático, donde replica. La progenie viral se libera con la bilis en el intestino y se excreta con las heces (virucopria). La virucopria se detecta 10 días antes de que se manifiesten los síntomas o de que aparezcan los anticuerpos y decae remarcablemente luego del comienzo de la fase de ictericia.

El HVA se replica lentamente en el hígado sin un efecto lítico evidente. El virus no produce una

infección crónica ni se asocia con cáncer de hígado. Sólo el 0,1% de los casos se presenta como hepatitis fulminante y este porcentaje se ha reducido a 0 después de la introducción de la vacuna contra este virus.

Manifestaciones clínicas

La hepatitis A es una enfermedad benigna y autolimitada que no deja secuelas y confiere inmunidad. En los casos sintomáticos el cuadro agudo aparece en forma abrupta y se caracteriza por un marcado ascenso del nivel de actividad de las transaminasas séricas con fiebre, astenia (cansancio), malestar general, anorexia, náuseas y vómitos en algunos casos; seguidos de ictericia, coluria (coloración amarillada de la orina) e hipocolia (coloración clara de las heces).

La respuesta inmune antiviral está mediada por anticuerpos del tipo IgM e IgG, es efectiva y duradera en el tiempo.

Epidemiología

La hepatitis A tiene una distribución universal y puede presentarse en forma de epidemias o brotes aislados.

Reservorio

El único reservorio es el ser humano que padece una hepatitis aguda.

Fuente de infección

La contaminación viral del agua o los alimentos y el contacto manual con utensilios o sanitarios contaminados es una fuente común de infección. Algunos brotes de hepatitis A han sido atribuidos a la ingestión de ostras bivalvas crudas obtenidas de aguas contaminadas por heces humanas.

Vías de transmisión

La principal vía de transmisión es el **ciclo ano-mano-boca**. El virus se encuentra presente en las heces alrededor de dos semanas antes de que aparezcan los síntomas clínicos.

El contacto de persona a persona es la forma más común de transmisión del HVA (entre personas que conviven con individuos con hepatitis A, entre niños que acuden a jardines de infantes, escuelas, etcétera).

La enfermedad excepcionalmente se transmite por sangre, debido a que el grado de viremia es bajo y no se produce infección crónica.

Cuadro 25-2. Características del virus de la hepatitis A

Característica	HAV
Familia	<i>Picornaviridae</i>
Virión	Desnudo
Tamaño	27 nm
Simetría de la cápside	Icosaédrica
Ácido nucleico	RNA monocatenario positivo
Transmisión	Fecal-oral

Diagnóstico

La identificación de IgM específicos anti-HVA es la prueba más importante para demostrar la existencia de una infección aguda por HVA. Además, la medición del título de IgG específica permite detectar la infección pasada.

Clínicamente el odontólogo puede percibir un tinte amarillento en la mucosa bucal antes de la aparición de otros signos. Lo mismo ocurre con otros tipos de hepatitis.

Profilaxis

La transmisión de la hepatitis A se reduce interrumpiendo la diseminación fecal-oral del virus. Debe evitarse cualquier contacto con alimentos, fómites o aguas potencialmente contaminados. Las medidas más importantes consisten en la correcta higiene de los baños con hipoclorito de sodio, el lavado frecuente y cuidadoso de las manos, sobre todo después de utilizar el baño, y el control estricto de la potabilidad del agua.

Inmunización

Se ha desarrollado una vacuna con virus inactivado, que es altamente inmunogénica (más del 99% de los casos) tanto en los niños como en los adultos (véase cap. 30). En nuestro país la vacunación es obligatoria desde el año 2005. Antes de esta medida, la hepatitis A fulminante era la principal causa de trasplante hepático en pacientes pediátricos en la Argentina.

Cuadro 25-3. Características del virus de la hepatitis B

Característica	HBV
Familia	<i>Hepadnaviridae</i>
Virión completo	Partícula de Dane
Tamaño	42 nm
Simetría de la cápside	Icosaédrica
Ácido nucleico	DNA de cadena doble incompleta
Transmisión	Parenteral, sexual, vertical

Se dispone además de inmunización pasiva con IgG, que puede ser administrada antes de la exposición o durante la fase inicial del período de incubación, para prevenir la aparición de hepatitis A clínicamente manifiesta, con un 80-90% de eficacia. Sin embargo, esto no impide la infección ni la excreción del virus.

HEPATITIS B

Características básicas

El virus de hepatitis B (VHB) pertenece a la familia *Hepadnaviridae* (cuadro 25-3) y es el único caso conocido de un virus diferente de los retrovirus que en un paso de su replicación requiere de la **transcripción inversa**.

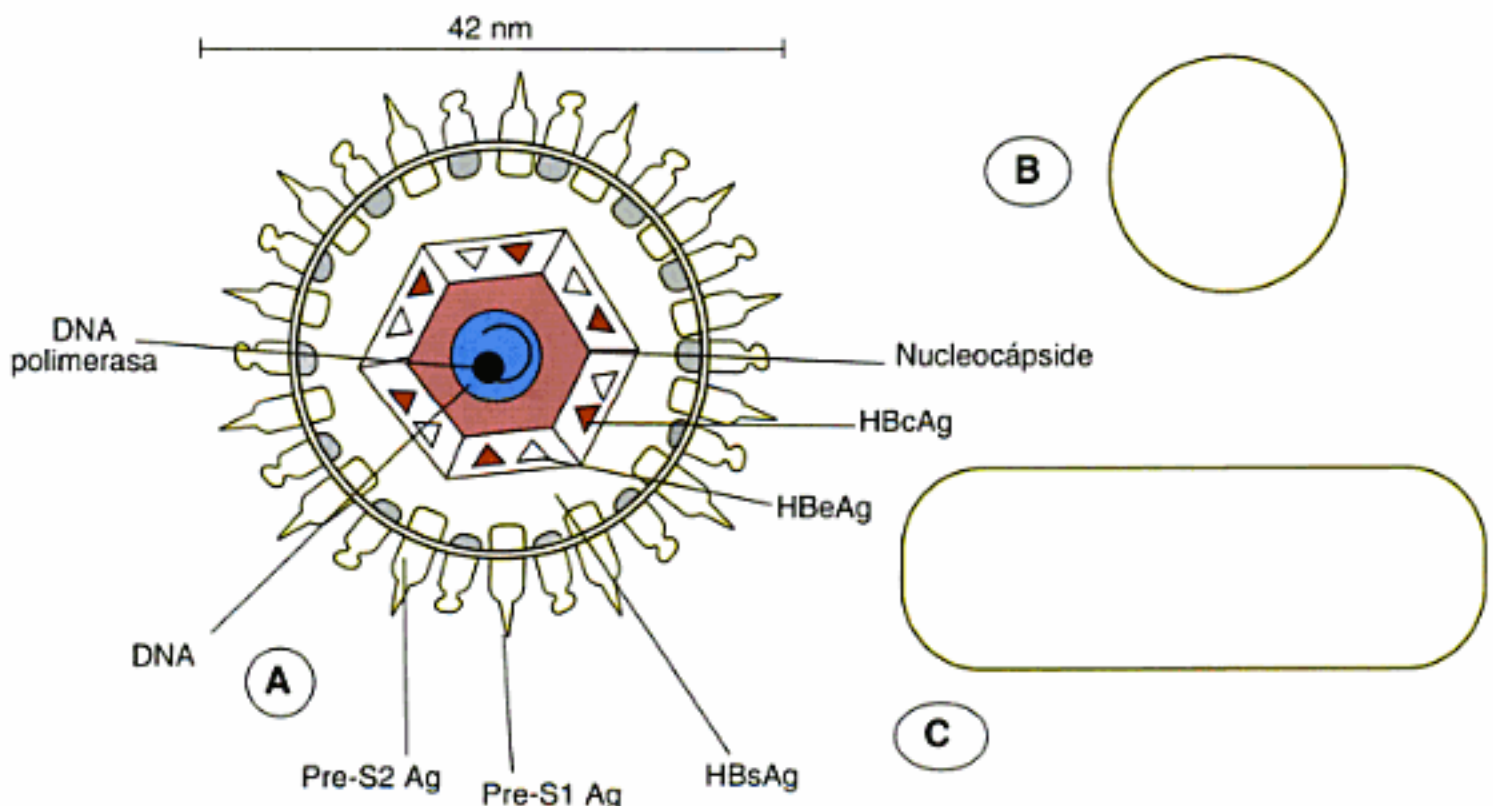


Fig. 25-11. Esquema de la estructura del virus de la hepatitis B y de las partículas subvirales esféricas y filamentosas. **A.** Partícula de DANE. **B.** Partícula esférica. **C.** Partícula filamentosas.

El virión completo, que se denomina partícula de Dane en honor al investigador que lo observó por primera vez mediante microscopía electrónica, tiene forma esférica, mide 42 nm de diámetro, presenta una **envoltura** y una estructura interna que es la **nucleocápside o core** (fig. 25-11 A).

El core contiene el **genoma viral** (DNA circular, laxo y bicatenario, en el cual una cadena está completa y la otra es incompleta) y una **polimerasa viral**, que es la responsable de la síntesis del DNA viral en las células infectadas.

El genoma viral contiene cuatro **marcos abiertos de lectura u ORF** (del inglés *open reading frames*). El primero se denomina **pre S-S** (del idioma inglés *pre-surface-surface*). Esta región codifica los antígenos pre-S1, pre-S2 y **HBsAg**. Este último está ubicado en la envoltura del virus y se denomina **antígeno de superficie**. Desde el punto de vista clínico, es el de mayor importancia, puesto que su presencia en el suero indica infección productiva (aguda o crónica) por el virus hepatitis B.

La segunda secuencia genética importante es la **pre C-C** (o *pre core-core*), que codifica los antígenos **HBcAg** (o antígenos del *core*) y **HBeAg** (o antígeno e).

La tercera codifica la **proteína P**, una enzima multifuncional con actividad de transcriptasa inversa, involucrada tanto en la síntesis del DNA viral como en la encapsidación del genoma del virus.

La última región del genoma codifica la **proteína X**, que no sólo es esencial para la replicación y diseminación del virus in vivo, sino que, además, está involucrada en la inducción de hepatocarcinomas relacionados con la infección crónica por este virus.

Además de las partículas de Dane, en el suero de los individuos infectados pueden observarse partículas no infectivas, esféricas (de 22 nm de diámetro) o filamentosas (de 22 nm de diámetro por 250-300 nm de longitud), constituidas casi totalmente por el antígeno de superficie y lípidos celulares (fig. 25-11 B y C).

Acción de los agentes físicos y químicos

El HBV puede permanecer viable durante meses a temperatura ambiente y por años en refrigeración o congelación. Resiste 60 °C durante más de una hora y también la desecación.

Se inactiva si se lo somete a calor seco (170 °C durante una hora) o al autoclave (121 °C durante 20 minutos) y también puede inactivarse con hipoclorito de sodio al 0,5%, glutaraldehído al 2%.

A diferencia de la mayoría de los virus con envoltura, el HBV no se inactiva con detergentes.

Síntesis del ciclo replicativo

Los hepadnavirus se caracterizan por infectar principalmente al hepatocito, aunque también se los han detectado en el páncreas, el riñón y las células mononucleares presentes en la sangre periférica. El mecanismo de entrada del virus a la célula hepática se desconoce. Luego de la penetración del virión en la célula y de su posterior desnudamiento, la DNA polimerasa sintetiza la porción faltante de DNA de la segunda cadena del genoma viral y en el núcleo celular se forma DNA viral circular de cadena doble. Parte de este DNA se integra al genoma del hepatocito y parte sirve como molde para la síntesis de RNA mensajero. Este RNA mensajero se traduce a proteínas y, además, es el molde para sintetizar la otra cadena del DNA del genoma viral. Esta síntesis de DNA dependiente de RNA tiene lugar dentro del centro del virión recién ensamblado en el citoplasma e implica un fenómeno de transcripción inversa. Se forman así nuevas nucleocápsides que, luego de brotar por el sistema de endomembranas, adquieren su envoltura que contiene HBsAg y se liberan de la célula a través de la membrana plasmática.

Patogenia y patología

La infección por HBV puede adquirirse por vía parenteral, sexual o vertical. El virus llega al hígado, se replica y se libera a la sangre en grandes cantidades, junto con las partículas no infectivas y los antígenos solubles (HBeAg y HBsAg). La replicación viral puede iniciarse tres días después del contagio, pero los síntomas a veces no se observan hasta 45 días después o incluso más, lo que depende de la dosis inoculada, de la vía de infección y de los rasgos diferenciales de cada individuo. La replicación del virus no es citopática y continúa durante períodos relativamente prolongados sin causar daño hepático evidente (elevación de las enzimas hepáticas o manifestaciones clínicas). Durante ese tiempo las copias del genoma del HBV pueden integrarse al genoma del hepatocito y permanecer allí.

La inmunidad mediada por células y la inflamación son responsables de la resolución de la infección y de la sintomatología. Normalmente, por acción del sistema inmune, la gran mayoría de las infecciones causadas por este virus se resuelven sin complicaciones. No obstante, en un 10% de los casos, una respuesta insuficiente de las células T conduce a la incapacidad para resolver la infección y, en consecuencia, genera una hepatitis crónica que puede persistir sin alteraciones mayores en el tiempo o, por el contrario, evolucionar hacia una forma severa, que puede terminar en una

El odontólogo de práctica general corre un riesgo tres veces mayor de contraer la infección por HBV que la población general, mientras que los especialistas en cirugía bucal o en periodoncia están expuestos a un riesgo seis veces mayor.

Diagnóstico de laboratorio

Se basa en la detección de marcadores serológicos específicos, fundamentalmente anticuerpos anti-HBcAg de tipo IgM, el HBsAg y el HBeAg (cuadro 25-4).

Profilaxis

La prevención de la hepatitis B comprende la utilización de vacunas preparadas con HBsAg (*inmunización activa*) o de gammaglobulina humana normal o hiperinmune (*inmunización pasiva*).

Otras medidas preventivas, como el control serológico rutinario sistemático que se realiza en los bancos de sangre y la efectiva **esterilización del instrumental médico-odontológico**, contribuyen a disminuir la transmisión de la infección por HBV.

Inmunización activa

En 1981 comenzó a utilizarse la primera **vacuna** contra la hepatitis B en seres humanos. Esta vacuna, identificada como de **primera generación**, consistía en partículas esféricas del HBV purificadas a partir de portadores crónicos del HBsAg y permitía obtener la seroconversión en el 95% de los vacunados. Posteriormente esa vacuna fue reemplazada por las vacunas de **segunda generación**, que contienen HBsAg sintetizado por técnicas de ingeniería genética en levaduras. Al igual que en el caso de las vacunas de primera generación, la utilización de las de segunda generación en niños y jóvenes promueve la seroconversión de hasta el 90% de los vacunados. El plan de vacunación se basa en administrar tres dosis: cero, uno y seis meses.

Actualmente se comercializa una vacuna que contiene los antígenos S y pre-S2 (de **tercera generación**) que se obtuvo mediante ingeniería genética, utilizando células de ovario de hámster chino transfectadas con un plásmido que contenía las secuencias nucleotídicas de las regiones genómicas S y pre-S2. La ventaja de esta vacuna es la aparición temprana y en títulos elevados de anticuerpos anti-pre-S2.

Desde 1992 rige en la Argentina la ley nacional 24.151, que declara obligatoria la vacunación con-

tra la hepatitis B para todo el personal que desarrolla actividades en el área de la salud y actualmente forma parte del calendario nacional de vacunación (véase cap. 30).

Inmunización pasiva

La inmunización pasiva se basa en la administración de **anticuerpos contra el HBsAg** del HBV. Estos anticuerpos son inmunoglobulinas que pueden obtenerse a partir del plasma de los individuos normales (inmunoglobulina estándar o normal) o de individuos convalecientes de una hepatitis B (inmunoglobulina hiperinmune) y que se emplean para proporcionar protección pasiva inmediata a las personas que se han expuesto a sangre positiva para el antígeno de superficie de la hepatitis B (después de una inoculación accidental con una aguja contaminada).

HEPATITIS C

El virus hepatitis C (HCV) fue descubierto más tardíamente, en 1988, y se identificó como la principal causa de hepatitis no A, no B de origen post-transfusional.

Características básicas

Este virus pertenece a la familia *Flaviviridae*, posee un tamaño de aproximadamente 60 nm y su **genoma** contiene RNA de cadena simple y polaridad positiva. Presenta una **envoltura** lipoproteica sensible a los solventes orgánicos.

Patogenia

El período de incubación varía de 5 a 10 semanas y la mayoría de los pacientes cursa la etapa aguda en forma subclínica.

Se ha observado que alrededor del 80% de las personas infectadas desarrollan un cuadro de hepatitis crónica que puede evolucionar hacia la cirrosis o un hepatocarcinoma.

Epidemiología

La hepatitis C es de distribución mundial, con una alta incidencia en los grupos de riesgo:

- Adictos por vía intravenosa.
- Politransfundidos.
- Hemofílicos.
- Hemodializados.
- Trasplantados.

HEPATITIS E

Características básicas

El virus de la hepatitis E (HEV) se relaciona con la familia *Caliciviridae*. Es pequeño, de 30-40 nm de diámetro, esférico y **sin envoltura**. Posee un **genoma RNA** de cadena simple. Es lábil a la congelación-descongelación y también si se lo mantiene 3-4 horas a 4 °C.

Patogenia

La enfermedad producida por el HEV es similar a la hepatitis A, así como su vía de transmisión

(el agua), pero su curso es más grave; no evoluciona a la cronicidad y no deja secuelas. En las embarazadas puede producir entre un 15 y un 20% de mortalidad. En la Argentina se han reportado dos casos.

La principal **vía de transmisión es la entérica**, por medio de agua o alimentos contaminados.

OTROS VIRUS CAUSANTES DE HEPATITIS

En 1995 se identificó un virus responsable de hepatitis agudas y crónicas que estaría asociado con la transmisión parenteral y se ha propuesto como el agente de la **hepatitis G**.

Cuadro 25-5. Características comparativas de las hepatitis virales

Característica	Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Hepatitis D	Hepatitis E
Tipo de virus	Desnudo RNA de cadena simple	Envuelto DNA de cadena doble incompleta	Envuelto RNA de cadena simple	Envuelto RNA de cadena simple circular	Desnudo RNA de cadena simple
Período de incubación	15-45 días	45-150 días	35-70 días	30-45 días	15-50 días
Transmisión	Fecal-oral	Parenteral, sexual, vertical	Parenteral, sexual (menos común)	Parenteral, sexual (menos común)	Fecal-oral
Fuente de infección	Heces	Sangre, saliva, semen	Sangre	Sangre	Heces, sangre
Cronicidad	No	Frecuente	Muy frecuente	Muy frecuente	No
Estado de portador	No	Sí (5-10%)	Sí (10-50%)	Sí	No
Probables complicaciones	Ninguna	Carcinoma hepatocelular Cirrosis	Carcinoma hepatocelular Cirrosis	Carcinoma hepatocelular Cirrosis	Ninguna
Profilaxis	Vacuna inactivada	Vacuna recombinante (HBsAg y pre-SAg)	No	No	No

Resumen

Se han identificado cinco tipos primarios de virus de la hepatitis: A, B, C, D y E. Algunos hallazgos recientes demostraron la existencia de otro tipo de virus causante de hepatitis (G). Aunque el órgano diana común de estos virus es el hígado, todos difieren en cuanto a su estructura, replicación, curso de la enfermedad y vías de transmisión. Todos los tipos de hepatitis pueden tener una severidad clínica que oscila entre la infección subclínica y la enfermedad fulminante aguda. Sólo las hepatitis A y E no conducen a la enfermedad crónica o al estado de portador crónico (cuadro 25-5).

La hepatitis A (HAV) es producida por un *picornavirus* (genoma RNA de polaridad positiva) y su vía de transmisión es la fecal-oral.

La hepatitis B (HBV) es provocada por un virus DNA de cadena doble incompleta compuesto por tres antígenos: el antígeno core (HBcAg), el antígeno E (HBeAg) y el antígeno de superficie (HBsAg). Estos antígenos persisten durante periodos variables y su presencia es útil para determinar el curso de la enfermedad y el estado del portador. Se disemina por vía parenteral (sangre o agujas contaminadas), por vía sexual o por vía vertical. Su período de incubación es de aproximadamente tres meses y se cronifica en el 5-10% de los casos.

Las hepatitis A y B se previenen mediante la administración de vacunas (cap. 30).

La hepatitis C (HCV) es causada por un virus de la familia *Flaviviridae* que causa una enfermedad similar a la hepatitis B (período de incubación prolongado, comienzo insidioso y cronicidad potencial). Se transmite por vía parenteral.

Las hepatitis D (HDV) sólo se observa en pacientes con infección productiva previa o concomitante por el HBV, ya que requiere la colaboración de éste para su propagación. Existen hepatitis D agudas y crónicas.

El virus de la hepatitis E (HEV) se transmite por vía enteral y causa una enfermedad con un curso clínico similar al de la hepatitis A (período de incubación corto, comienzo agudo y recuperación completa). La enfermedad puede ser más grave en la mujer embarazada, particularmente en el tercer trimestre.

La identificación de los marcadores serológicos para los antígenos y los anticuerpos específicos de cada tipo de virus es importante para el diagnóstico, la prevención y el control de la hepatitis viral.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué agentes causantes de hepatitis conoce?
2. ¿Qué características tiene cada uno de los agentes etiológicos?
3. ¿Qué fuentes de infección conoce?
4. ¿Qué vías de entrada del virus HVB puede citar?
5. ¿Qué estructura antigénica tiene el HVB?
6. ¿Cuándo una persona puede ser fuente de infección para otra?
7. ¿Qué complicaciones o evolución de la hepatitis B puede citar?
8. ¿Qué profilaxis hay para evitar esta enfermedad?

BIBLIOGRAFÍA

Ganem D, Prince AM. Mechanisms of disease hepatitis B virus infection. Natural history and clinical consequences. *N Engl J Med*, 2004; 350:1118-29.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Virus de la hepatitis. En: *Microbiología médica*. 5ª ed. Madrid: Elsevier España

SA, 2006; pp. 675-90.

Ramella MR. Hepatitis. En: Negroni M. *Microbiología Estomatológica*. 1ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1999; pp. 381-93.

Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nature Reviews*, 2005; 5:215-29.

INFECCIONES VIRALES

4º PARTE

VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

María Rosa Ramella, María Inés González y Norberto Sanjuan

Contenidos

Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). Características básicas. Patogenia y patología. Diagnóstico de laboratorio. Profilaxis.

Objetivos

- Describir la etiopatogenia, el diagnóstico, la prevención y las implicancias odontológicas de las enfermedades producidas por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV).

VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (HIV)

En 1981 los Centros de Control de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos de América describieron casos de neumonías producidas por microorganismos hasta entonces no asociados a patologías humanas en pacientes que presentaban deficiencias inmunitarias, así como la aparición estadísticamente anormal de sarcomas de Kaposi en los mismos enfermos. Fue el equipo de investigación encabezado por Luc Montagnier en el Instituto Pasteur de París el que aisló el virus asociado a esta patología que fue conocido con distintos nombres hasta que, en 1986, se lo denominó "HIV", por las siglas inglesas de "virus de la inmunodeficiencia humana". Desde ese momento comenzó una de las más severas pandemias que se registran en la historia de la humanidad, sólo comparable a la de la peste en la Edad Media.

Características básicas

Desde el punto de vista microbiológico, se trata de un **virus envuelto**, que tiene glucoproteínas de superficie y una **nucleocápside icosaédrica** que contiene un **genoma** constituido por **dos moléculas de RNA**, lo que llevó a que algunos lo denominen "pseudodiploide" (fig. 25-13).

La característica principal de este virus es que para replicar tiene que transformar su RNA genó-

mico en DNA, reacción química que sólo puede realizarse mediante la acción de una **transcriptasa inversa** viral, es decir, de una enzima que en vez de transcribir el DNA en RNA, como ocurre en la síntesis proteica, cataliza el fenómeno inverso. Por ese motivo al HIV se lo clasifica como un retrovirus.

Como todos los retrovirus (ya que existen otros, diferentes al HIV que están implicados en la patogenia de leucemias y sarcomas de animales), desde el punto de vista de su **estructura**, mide aproximadamente 100 nm, tiene una **envoltura glucoproteica** obtenida en parte de la membrana plasmática de la célula a la que infecta y varios antígenos, como lo son las espículas formadas por las glucoproteínas gp120 y gp41.

La **cápside** está formada por la proteína p17 y, por dentro de ella, existe otra denominada "conoide" que está compuesta por el RNA viral, la proteína p24, las proteínas p7 y p9, y la enzima característica de estos virus (transcriptasa inversa) que tiene funciones de polimerasa y de ribonucleasa.

Existen dos tipos de HIV: el HIV-1 que es el que provoca la pandemia y el HIV-2 que está limitado a infecciones en África Occidental. Se sospecha que ambos derivan filogenéticamente del virus de la inmunodeficiencia de los simios (SIV).

El **genoma viral** está compuesto, fundamentalmente, por los tres genes clásicos de cualquier retrovirus: el *gag*, que codifica la síntesis de las proteínas de la cápside; el *pol*, que codifica para la

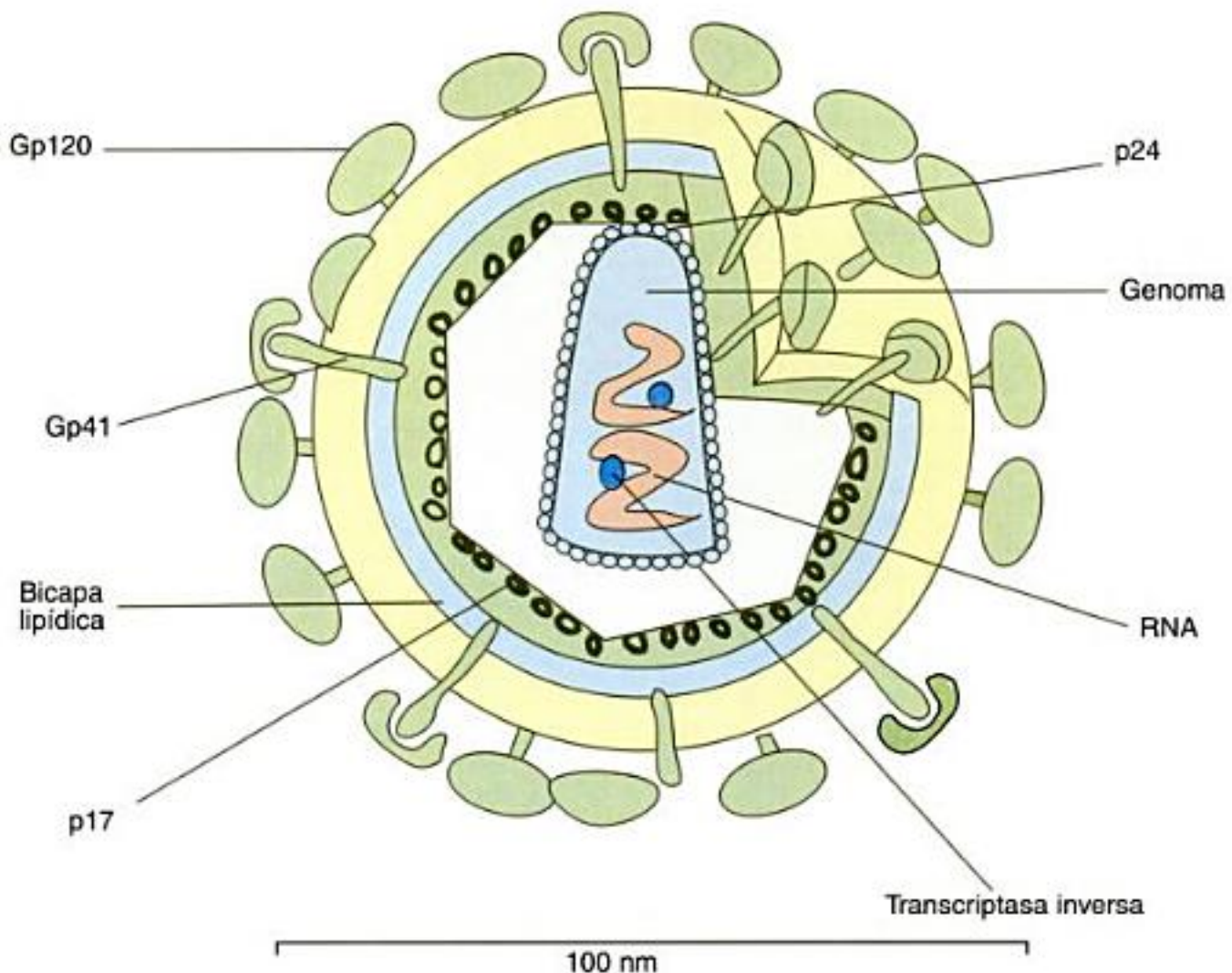


Fig. 25-13. Esquema de la estructura del HIV.

transcriptasa inversa, y el *env* que lleva la información necesaria para que el virus adquiriera una envoltura. Pero existen además otros seis genes reguladores, como el *tat*, el *rev* y el *nef*, que actúan sobre la transcripción a través de las proteínas que codifican: p14, p19 y p25/27, respectivamente; y también el *vif*, el *vpr* y el *vpu*, que inciden sobre los procesos de maduración y de liberación del virus y cuya descripción excede los objetivos de este libro.

Lo más importante a tener en cuenta con respecto al genoma viral, desde el punto de vista práctico, es su **variabilidad**. Esto implica que existen mutaciones, a veces puntuales, en genes virales críticos que contribuyen a que existan cepas de HIV resistentes a los antirretrovirales y, por otra parte, dificultan la elaboración de una vacuna universal, dado que hay distintos tipos de HIV-1 distribuidos en diferentes lugares del mundo. Por ejemplo, en la Argentina, el equipo de investigadores del Centro de Referencia para el SIDA detectó mutaciones en uno de los cinco dominios de la glucoproteína gp120 (denominado *V3 loop*) que eventualmente harían inefectiva para su aplicación local una even-

tual vacuna contra HIV que no incluyera a estas proteínas mutantes como antígenos.

El **ciclo replicativo** del virus es complejo. Las células blanco son, esencialmente, los linfocitos T CD4+, pero también los macrófagos, las células dendríticas (presentadoras profesionales de antígenos), las células neurales y otras. El receptor celular con el que contacta el virus es el CD-4, aunque, además, existen correceptores, como el CXCR-4 y el CCR-5, que hacen que el tropismo del virus sea preferencial hacia los linfocitos o hacia los macrófagos, respectivamente.

Una vez que el virus reconoció al receptor celular, fusiona su envoltura con la membrana plasmática y sólo su nucleocápside ingresa a la célula, liberando al RNA genómico viral en el citoplasma, asociado a las proteínas del *core*. Por acción de la transcriptasa inversa ese RNA sirve de templado para formar una cadena complementaria de DNA. Este híbrido es muy inestable y, pronto, la cadena original de RNA es hidrolizada y en su lugar se sintetiza una cadena de DNA complementaria a la primera; en consecuencia, se obtiene un genoma integrado por dos cadenas de DNA viral.

Los linfocitos infectados y activados irán a la lisis, con lo cual su número disminuirá. Pero existen otras evidencias experimentales que indican que el HIV no sólo actúa como un virus citopático. A estos mecanismos se los denominan como **colaterales** en la patogénesis por el HIV. Por ejemplo, si se cultivan linfocitos T CD4+ y CD8+ no infectados pero provenientes de ganglios linfáticos de pacientes infectados con HIV, se observa que esos linfocitos van a la muerte por apoptosis sin que exista infección viral alguna. Para ser breves, se sospecha que los linfocitos infectados con HIV en el ganglio linfático sobreexpresan las moléculas de FasL (ligando del Fas). Como los demás linfocitos no infectados tienen en la membrana plasmática al receptor de Fas, y ésta es una molécula inductora de apoptosis, el solo hecho de que los linfocitos infectados contacten con los no infectados por el HIV hace que estos últimos vayan a la apoptosis, disminuyendo aun más la respuesta inmune específica contra el virus.

Diagnóstico de laboratorio

Cuando se desea conocer si un paciente está infectado con el virus HIV, intenta detectarse la presencia de **anticuerpos específicos** contra el virus. Inicialmente se practica una técnica de ELISA con el suero del paciente, que puede ser reactiva o no reactiva. En el primer caso se necesita confirmar esta prueba por *Western blot*. En esta técnica se enfrentan los antígenos virales, comercialmente separados por electroforesis en papeles especiales, con el suero del paciente que contiene potencialmente anticuerpos contra el virus. Dependiendo de las bandas de proteínas reconocidas por el suero del enfermo, el *Western blot* será

caracterizado como "positivo", "negativo" o "indeterminado".

El seguimiento del curso de la infección, en cambio, no se realiza dosando anticuerpos en el paciente, sino determinando el número de copias del **genoma de HIV** presente en el suero, procedimiento denominado "carga viral". La interpretación de estos resultados exceden el objetivo de este libro y están reservados a los médicos especialistas en Infectología Clínica, así como las otras circunstancias en las que el HIV puede provocar infecciones.

Profilaxis

No existen en la actualidad vacunas contra el HIV, debido principalmente a la variabilidad del virus, si bien se está trabajando activamente en ellas.

La mejor profilaxis consiste en el uso de preservativos durante las relaciones sexuales, especialmente en aquellas mantenidas con parejas no conocidas, el hecho de no compartir jeringas usadas para administrar drogas intravenosas, el control de los bancos de sangre y el impedir el amantamiento de niños recién nacidos con leche derivada de madres infectadas con el virus, entre otras cosas.

También debería agregarse la necesidad de implementar un tratamiento anti-retroviral precoz en los profesionales de la salud que, por algún motivo, hubieran tenido accidentalmente heridas punzocortantes contaminadas con sangre de pacientes infectados con HIV. En este último caso la administración de esos fármacos debería hacerse dentro de las primeras horas de la eventual inoculación involuntaria del virus.

FIEBRE HEMORRÁGICA ARGENTINA

María Rosa Ramella, María Inés González y Norberto Sanjuan

Contenidos

Fiebre hemorrágica argentina. Características básicas. Manifestaciones clínicas. Epidemiología. Diagnóstico de laboratorio. Profilaxis.

Objetivos

- Describir la etiopatogenia, las manifestaciones clínicas, la epidemiología, el diagnóstico, la prevención y las implicancias odontológicas de las enfermedades producidas por el virus Junín.

FIEBRE HEMORRÁGICA ARGENTINA

La fiebre hemorrágica argentina (FHA), también denominada “mal de los rastrojos”, es una enfermedad infecciosa endemoepidémica producida por el **virus Junín**.

Este virus fue descubierto en 1958 a partir de la sangre de residentes de la localidad de Junín, provincia de Buenos Aires, por el Dr. Julio Barrera Oro, del Instituto Nacional de Microbiología “Carlos G. Malbrán”, Buenos Aires, Argentina.

Posteriormente se lo aisló de roedores silvestres (géneros: *Calomys* y *Akodón*) persistentemente infectados capturados en esas zonas endémicas y más tarde, el Dr. Eduardo F. Lascano (también del Instituto Malbrán) lo observó por primera vez por microscopía electrónica de transmisión y lo caracterizó como un “arenavirus”.

La **región geográfica** de mayor incidencia de esta enfermedad corresponde al noroeste de la provincia de Buenos Aires, al sudeste de la provincia de Córdoba, al sur de la provincia de Santa Fe y al noreste de la provincia de La Pampa.

Entre 1970 y 1990 se desarrollaron numerosos estudios que culminaron con la obtención del tratamiento específico y de una vacuna para prevenir la enfermedad.

Características básicas

Este virus pertenece a la familia *Arenaviridae* y al grupo de los arenavirus del Nuevo Mundo o

complejo Tacaribe. Los arenavirus se caracterizan por producir infecciones persistentes en roedores, los que actúan como reservorios naturales y transmiten la enfermedad al hombre.

Los viriones son pleomorfos, esféricos y de 50-300 nm de diámetro y contienen **ARN** monocatenario segmentado. La **envoltura**, que adquieren al salir de la célula por brotación, es lipoproteica y posee importantes glucoproteínas antigénicas para la inducción de anticuerpos neutralizantes. En el interior del virión se observan **ribosomas** de origen celular que le confieren una apariencia granular de la que deriva el nombre del virus (del latín *arenosus*: arenoso) (fig. 25-14 y cuadro 25-6).

Manifestaciones clínicas

La FHA es una enfermedad aguda y de corta duración que se caracteriza por un síndrome febril, diátesis hemorrágica, leucoplaquetopenia y compromiso variable del sistema nervioso central. La mayoría de los pacientes se curan, pero un 15 a un 20% de los casos no tratados son fatales.

La puerta de entrada del virus Junín al organismo es la cutaneomucosa y el período de incubación de la enfermedad oscila entre 1 y 2 semanas.

Los síntomas y los signos clínicos de aparición temprana y de mayor valor para el diagnóstico clínico inicial consisten en: astenia marcada, mareos, enantema bucofaríngeo y conjuntival (facies de ebrio matinal), hemorragias gingivales, adenopatías, petequias cutáneas y dolor retroocular. Desde

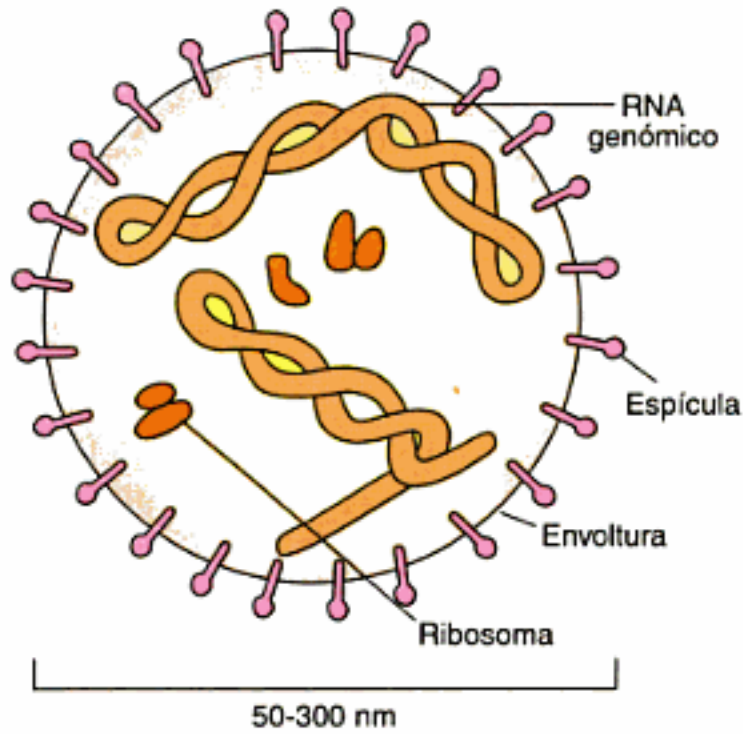


Fig. 25-14. Esquema de la estructura del virus Junín.

el punto de vista del laboratorio clínico, se manifiesta una importante leucoplaquetopenia y se observan células redondas en la orina (células de Milani).

Los síntomas y los signos clínicos se agudizan en la mayoría de los enfermos (6 a 10 días después del comienzo de la enfermedad), y se acentúa el compromiso cardiovascular, hemático, digestivo y neurológico. En este período son frecuentes las infecciones bacterianas.

Entre los 11 y los 14 días de evolución el 80-90% de los enfermos experimentan una mejoría manifiesta. En el 10-20% de los casos la sintomatología se agrava, aumentan las manifestaciones neurológicas y el paciente entra en un coma o un shock que lo conducen a la muerte.

Epidemiología

Las secreciones de los roedores persistentemente infectados (orina y saliva) que contaminan los pastos y los rastrojos en las áreas endémicas constituyen la **fente de infección** de la enfermedad al ser humano.

Entre las especies infectadas naturalmente se hallan *Calomys musculinus*, *Calomys laucha* y *Akodon azarae*; el primero de los nombrados es el principal **reservorio**.

El virus Junín penetra en el organismo humano por **vía cutaneomucosa**, a través de excoriaciones en la piel o por las mucosas conjuntival, oral o nasal, o por inhalación de los aerosoles que se han contaminado por virus durante la cosecha manual o mecánica.

Estas vías también se han comprobado a través de accidentes de laboratorio y en trabajos experimentales con cobayos.

La FHA presenta una **incidencia** estacional, con un pico en otoño, que coincide con las cosechas del maíz y el sorgo. A su vez, el incremento de casos se relaciona con el aumento de la densidad de roedores, lo que favorece el contacto del trabajador rural con los reservorios infectados.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de certeza se realiza por medio del **aislamiento del virus Junín** de la sangre del enfermo en el período agudo o por la detección de anticuerpos en el suero.

El aislamiento puede realizarse en células, donde el virus producirá efecto citopático, o en animales de experimentación (ratón lactante o cobayos), en los que causará trastornos neurológicos o hemorrágicos.

La **detección de anticuerpos** se realiza en muestras pareadas de suero (la primera se extrae durante la fase aguda y la segunda en la convalecencia) mediante técnicas de fijación del complemento, neutralización, inmunofluorescencia indirecta o enzimoimmunoensayo.

Profilaxis

La profilaxis debe apuntar al **control de los reservorios** y a la **inmunización** de la población susceptible (trabajadores rurales y personal de laboratorio).

Los roedores con infección persistente desempeñan un papel fundamental en la diseminación del virus Junín. Entre los métodos para su control se destacan la reducción de su número mediante captura, rodenticidas, aumento de los predadores, sustitución de los cultivos, pastoreo intensivo de los campos, etcétera.

Los estudios sobre vacunas contra la FHA han seguido distintas líneas de investigación: vacuna

Cuadro 25-6. Características del virus Junín

Familia	<i>Arenaviridae</i>
Morfología	Esférico o pleomórfico
Tamaño	50-300 nm
Ácido nucleico	RNA segmentado
Transmisión	cutaneomucosa
Reservorio	<i>Calomys musculinus</i> , <i>Calomys laucha</i> , <i>Akodon azarae</i>

con virus inactivado, vacuna de subunidades con glucoproteínas y utilización de virus vivo homólogo o heterólogo.

Entre 1979 y 1985 se realizaron investigaciones

que permitieron obtener una cepa atenuada del virus Junín: **Candid 1**. Los estudios realizados *a posteriori* demostraron la eficacia de esta vacuna en el 95% de los casos.

Resumen

La FHA es una enfermedad infecciosa endemoepidémica que afecta principalmente a trabajadores rurales de una importante zona agricolaganadera de la Argentina (provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y La Pampa).

El virus Junín, agente etiológico de esta enfermedad, pertenece al grupo de los arenavirus del Nuevo Mundo. Estos virus se caracterizan por producir infecciones persistentes en roedores, los que actúan como reservorios naturales y transmiten la enfermedad al hombre.

Los viriones son de forma oval o esférica, y contienen RNA monocatenario segmentado y una envoltura lipoproteica.

La FHA es una enfermedad aguda y de corta duración que se caracteriza por un síndrome febril, diátesis hemorrágica, leucoplaquetopenia y compromiso variable del sistema nervioso central. La mayoría de los pacientes se curan, pero un 15 a un 20% de los casos no tratados son fatales.

El diagnóstico se establece por aislamiento del virus Junín de la sangre del enfermo o por la detección de anticuerpos mediante diferentes técnicas.

Entre 1970 y 1990 se realizaron investigaciones que culminaron con la obtención de una vacuna para prevenir la enfermedad.

Preguntas de revisión

1. ¿Cuál es el agente etiológico de la fiebre hemorrágica argentina?
2. ¿Qué características estructurales tiene el virus Junín?
3. ¿Qué zona endémica de fiebre hemorrágica hay en la Argentina?
4. ¿Qué características clínicas tiene la enfermedad?
5. ¿Qué manifestaciones bucales tiene la FHA?
6. ¿Cuál es la fuente de infección?
7. ¿Cuál es el reservorio de la infección?
8. ¿Por qué vías penetra el virus en el organismo humano?
9. ¿Qué diagnóstico se usa para esta enfermedad?
10. ¿Qué métodos de prevención puede citar?

BIBLIOGRAFÍA

Buchmeier MJ, Bowen MD, Peters CJ. Arenaviridae: the viruses and their replication. In: Fields virology. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkin, 2001; pp. 1635-68.

Castilla V, Enria D. Arenaviridae En: Basualdo JA, Coto CE,

Torres RA. Microbiología biomédica. Bacteriología, Micología, Virología, Parasitología e Inmunología. 2^a ed. Buenos Aires: Atlante, 2006; pp. 998-1013.

Ramella M.R. Fiebre hemorrágica argentina. En: Negróni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. 1^a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1999; pp. 414- 7.

LEISHMANIASIS

Marta Negroni y Carlos Aceto

Contenidos

Leishmaniasis cutánea del Nuevo Mundo o tegumentaria americana. Generalidades. Sinonimia. Agente etiológico. Epidemiología. Características clínicas generales. Patogenia e inmunología. Diagnóstico. Diagnóstico diferencial. Nociones de tratamiento. Profilaxis.

Objetivos

- Mencionar el agente etiológico.
- Describir la forma de adquisición de la enfermedad.
- Citar las etapas del ciclo evolutivo del parásito.
- Identificar las manifestaciones clínicas que provoca.
- Citar vector y reservorios.
- Establecer la importancia en patología bucal.

INTRODUCCIÓN

Las leishmaniasis son causadas por protozoos del género *Leishmania*, con dos subgéneros (*Leishmania* y *Viannia*) géneros que abarcan hasta veinte especies de **parásitos heteroxénicos** que requieren un **vector** y un **mamífero**, como el hombre, para cumplir su ciclo. Por razones de practicidad, se las agrupa en tres (grupo de *L. donovani*, *L. tropica* y *L. brasiliensis*).

Las leishmanias producen manifestaciones cutáneas, cutaneomucosas o mucocutáneas, cutánea difusa y viscerales (estas últimas corresponden al kalaazar, que se manifiesta en la India y la China).

La distribución de estas enfermedades varía según las especies de *Leishmania* que las producen, la distribución geográfica y el estado inmunológico del enfermo. La diseminación tiene lugar a través de flebotomos vectores que las transmiten por medio de sus picaduras.

Todas ellas tienen en común que en el vector el parásito adquiere el aspecto de **promastigota** (parásito ovoide o fusiforme de 10 a 15 µm por 2 o 3 µm, con un largo flagelo externo), mientras que

en el hospedador mamífero se transforma en **amastigota** (células más esféricas y pequeñas, sin flagelo externo). Estas últimas células se reproducen en el interior de los macrófagos del sistema retículo-endotelial.

En Argentina los casos diagnosticados corresponden a las formas cutaneomucosas.

LEISHMANIASIS CUTÁNEA DEL NUEVO MUNDO O TEGUMENTARIA AMERICANA

Generalidades

Las leishmaniasis son procesos infecciosos provocados por protozoos del género *Leishmania*, pertenecientes al *phylum* *Sarcomastigophora*. La enfermedad se adquiere por transmisión del parásito a través de un vector (la hembra adulta de un insecto del género *Phlebotomus* o *Lutzomyia*) que sólo existe en algunas zonas endémicas.

El flebotomo vive pocos días, recorre distancias cortas y vuela a baja altura, limitaciones que determinan que sobreviva en ciertas zonas. En

nuestro país se lo ve en Formosa, Chaco, Corrientes, Misiones, Jujuy y especialmente en la zona limítrofe con Paraguay y Brasil.

Cuando el flebótomo pica a los vertebrados (hombre infectado o reservorio: perros, roedores), transporta el parásito al intestino y de allí a la faringe y lo inocula ya como **promastigota** (una de las formas evolutivas) al hombre u otro reservorio, el que a su vez lo transforma en **amastigota** (forma adulta de la evolución del parásito) (figs. 26-1 y 26-2).

La leishmaniasis tegumentaria americana está difundida en Latinoamérica.

Sinonimia

Según la presentación clínica y la localización geográfica, la enfermedad ha sido denominada pián, bosque, frambesia de los arbustos, botón de oriente, uta y úlcera de los chicleiros.

Agente etiológico

La forma cutaneomucosa americana es provocada por *Leishmania braziliensis* (Vianna, 1911) y se ve con mayor frecuencia en hombres que en mujeres, particularmente en individuos que trabajan en zonas boscosas.

Otros agentes son *L. panamanensis*, *L. mexicana* y otras especies relacionadas.

Epidemiología

La leishmaniasis cutánea americana es endémica en América Central y América del Sur; es una zoonosis. La enfermedad es común en personas que trabajan en zonas boscosas y en pobladores rurales. Los brotes suelen producirse cuando se realizan tareas de desmonte para construir aldeas, caminos, granjas, etcétera.

Los reservorios primarios son pequeños roedores del monte; los animales domésticos pueden servir como reservorios secundarios.

Los **vectores** son moscas de la arena del suelo de la vivienda o arbóreas del género *Lutzomyia*. Estas moscas abundan en los montes.



Fig. 26-1. Morfología de *Leishmania*. A. Promastigota; B. Amastigota.

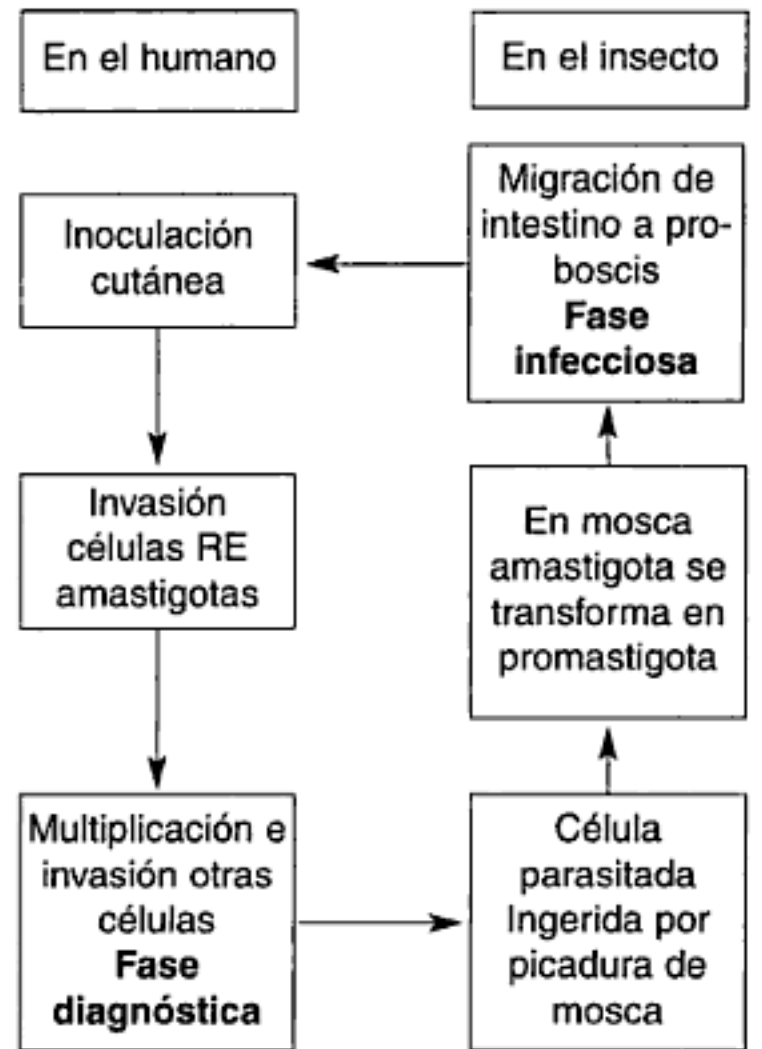


Fig 26-2 Ciclo vital de *Leishmania*.

Con la epidemia por HIV se han incrementado los casos de esta enfermedad.

Características clínicas generales

El espectro de la enfermedad comprende úlceras cutáneas aisladas localizadas preferentemente en las piernas, leishmaniasis cutánea difusa y enfermedad mucosa (espundia) debida a *L. braziliensis*.

Se trata de la única leishmaniasis cutánea americana que conlleva una mortalidad significativa.

El **período de incubación** dura aproximadamente 30 días. Esta variante de *Leishmania* provoca serias lesiones bucales. En la **primera etapa** de la enfermedad aparecen lesiones en la piel, la cara, las orejas (**chancro de inoculación**) y, en especial, en los miembros, en forma de úlceras grandes, redondeadas, ovales, que drenan una secreción abundante. Por lo general las úlceras no son dolorosas ni se acompañan de adenopatías y se curan espontáneamente dejando sólo una cicatriz.

En una **segunda etapa**, llamada **período intermedio o de diseminación**, pueden aparecer erupciones cutáneas por invasión hematógena; estas erupciones son de tipo alérgico.

Después de meses o años se detectan las manifestaciones tardías.

Leishmaniasis cutánea

En esta leishmaniasis se observa una amplia variedad de manifestaciones dermatológicas que varían desde pequeñas lesiones costrosas y secas hasta grandes úlceras profundas y mutilantes.

Puede haber una sola lesión o muchas, por lo general en un área expuesta del cuerpo.

En la enfermedad cutánea localizada la lesión aparece de 2 a 8 semanas después de la picadura de la mosca de la arena como una pequeña pápula eritematosa que progresa con lentitud hasta formar una úlcera de leishmaniasis típica, vale decir redonda con bordes sobreelevados y una base con tejido de granulación y cubierta de exudado.

La úlcera puede persistir durante meses o años. Hay formas impetigoides, verrugosas, nodulares e hiperqueratósicas.

Si las úlceras se localizan en el labio superior, pueden alcanzar zonas nasales.

En ocasiones aparece una gran vegetación que se proyecta por arriba de la piel y simula una neoplasia por el aspecto tumoral; su superficie puede ser erosiva, granulomatosa o vegetante.

Otros síndromes causados por *L. braziliensis* consisten en adenopatías regionales, a veces masivas, que se presentan 1 a 12 semanas antes de que aparezcan las lesiones cutáneas. Además, hay malestar general, anorexia, pérdida de peso y fiebre leve; no se observa hepatomegalia ni esplenomegalia. Las adenopatías remiten a medida que se manifiesta y se agranda la úlcera.

En estos casos se ha arribado al diagnóstico de leishmaniasis por biopsia-aspiración de los ganglios linfáticos, o por raspaje o biopsia de las lesiones cutáneas una vez desarrolladas.

Leishmaniasis cutánea difusa

Esta presentación está asociada a un fuerte deterioro inmunológico del hospedador.

Es de evolución crónica. Las manifestaciones cutáneas son de tipo nodular, no ulcerosas; aparecen en toda la superficie cutánea y semejan una lepra.

Leishmaniasis mucosa

L. braziliensis y en raras ocasiones otras especies pueden persistir después de la desaparición de la úlcera cutánea primaria y ocasionar con ulterioridad una infección mucosa mutilante.

En la mucosa pueden observarse lesiones destructivas en el paladar blando, la úvula y los pilares del paladar, lo que dificulta la alimentación.

La epistaxis y la obstrucción nasal son signos tempranos.

El proceso a menudo se inicia en el tabique con una ligera tumefacción y enrojecimiento de la mucosa, y progresa con lentitud hasta provocar la perforación.

Si el tabique nasal resulta destruido, la punta de la nariz puede colapsar (nariz de tapir). Es posible que haya perforación a través de la piel de la nariz o a través del paladar blando, como se dijo.

Algo digno de remarcar es que a veces no se observan adenopatías.

Patogenia e inmunología

En las lesiones cutáneas causadas por *L. braziliensis* los amastigotas suelen ser escasos o indetectables.

Las biopsias pueden mostrar inflamación crónica inespecífica o cambios granulomatosos. La lisis de los macrófagos cargados de parásitos parece ser el método básico de reducción parasitaria.

Finalmente, se desarrolla un granuloma que precede a la resolución.

En un porcentaje variable de los pacientes el compromiso de las mucosas aparece entre meses y muchos años después de la desaparición de las lesiones cutáneas.

Como ya se ha dicho, el compromiso de la nariz, la cavidad bucal y la faringe puede ser muy severo.

La enfermedad se caracteriza por infiltrados mononucleares intensos con parásitos escasos.

Las razones que explican el predominio del compromiso nasal son una temperatura más baja en esa zona que favorece el crecimiento del parásito, la falta de una respuesta celular inmune efectiva en el cartílago y también podría explicarse por un traumatismo o el atrapamiento de amastigotas en el plexo capilar.

Diagnóstico

El diagnóstico se basa en la identificación de amastigotas en los tejidos, en el aislamiento del parásito por cultivo o en la evidencia inmunológica en el contexto clínico apropiado.

La muestra de biopsia en sacabocados debe ser obtenida del borde de las lesiones cutáneas sospechosas. Debe higienizarse bien la zona lesionada para evitar la contaminación bacteriana o micótica. Las improntas se realizan a partir de ese material, se tiñen con Giemsa y se examinan para detectar amastigotas. Una porción se usa para cultivo y el resto se fija con formol para el examen histopatológico.

El diagnóstico también puede efectuarse en preparados realizados a partir de raspados de los bordes de la lesión, coloreados con la técnica citada.

En los casos en los que las adenopatías preceden o acompañan a las úlceras cutáneas en etapas tempranas de la infección por *L. braziliensis* puede arribarse al diagnóstico por aspiración de material de un ganglio agrandado.

La respuesta de anticuerpos en la leishmaniasis es variable; los anticuerpos pueden ser indetectables y cuando están presentes, el título suele ser bajo.

La prueba con leishmanina (reacción de Montenegro) es positiva en el 86,5 al 100% de los casos.

La prueba de anticuerpos fluorescentes indirecta arroja resultados útiles en el 62,5% de los pacientes cuando se emplean promastigotas como fuente de antígeno, pero si éste ha sido preparado con elementos de la fase de amastigota la positividad es del 89 al 96%.

La prueba de ELISA es positiva en el 85% de los casos.

También se usan sondas de DNA.

Diagnóstico diferencial

La leishmaniasis cutánea debe diferenciarse de la esporotricosis, de la cromomycosis, de la tuberculosis cutánea, de una infección por micobacterias atípicas, de la sífilis, de la lepra, de la sarcoidosis y de las neoplasias.

La leishmaniasis mucosa debe diferenciarse de la paracoccidioidomicosis, de la sífilis terciaria, de la histoplasmosis, de la sarcoidosis y de un carcinoma basocelular.

Nociones de tratamiento

Los fármacos de primera elección son los compuestos de antimonio pentavalente (antimoniato de meglumina y estibogluconato de sodio).

Otras drogas utilizadas son la anfotericina B, el ketoconazol, el itraconazol y el alopurinol. Se ha incorporado otra droga, con muy buenos resultados, la miltefosine.

Profilaxis

Como la leishmaniasis cutánea es una zoonosis de la selva, en la mayor parte de las zonas es poco lo que puede hacerse para controlar los reservorios o los vectores.

Debe tenerse el cuidado de evitar el establecimiento de poblaciones en el límite de las zonas selváticas involucradas o dentro de ellas.

Los repelentes de insectos brindan protección parcial.

En las zonas endémicas se aconseja dormir cubierto o bajo la protección de mosquiteros para prevenir la picadura del vector durante el descanso nocturno.

Resumen

La leishmaniasis es una parasitosis endémica de tipo zoonosis debida a un protozoo del género *Leishmania*. En nuestro país *L. braziliensis* afecta a las provincias del Norte. El parásito requiere un vector (flebotomo) que transmita la enfermedad desde un reservorio primario o secundario a hospedadores sanos por medio de su picadura. La picadura introduce las formas promastigotas del parásito, que luego se transforman en amastigotas. Existen formas cutaneomucosas, las que revisten interés odontológico.

El diagnóstico se establece por métodos directos e indirectos.

La prevención es difícil en áreas selváticas.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué agente etiológico de leishmaniasis americana puede citar?
2. ¿Qué vectores conoce y qué etapa del parásito albergan?
3. ¿Qué mecanismo de transmisión existe?
4. ¿Qué formas se encuentran en los tejidos del hospedador y dónde se ubican?
5. ¿Qué manifestaciones clínicas ocasiona la leishmaniasis a nivel cutáneo y en la mucosa bucal?
6. ¿Qué importancia odontológica tiene esta enfermedad?
7. ¿Qué métodos de diagnóstico puede citar?
8. ¿Cuáles son los métodos preventivos?

BIBLIOGRAFÍA

- Aceto C. Capítulo 25. Enfermedades de etiología parasitaria. Primera parte: *Leishmaniasis*. En: Negroni, M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica. 2ª ed. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana, 2003; pp. 419-422.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 83. Protozoos sanguíneos y tisulares. *Leishmania*. En: Microbiología médica. 5ª ed. España: Elsevier Mosby, 2006; pp. 871-873.
- Palmieri OJ. Capítulo 67. *Leishmaniasis*. En: Enfermedades infecciosas. Chile: McGraw Hill, 2001; pp. 446-451.
- Taranto N, Soriano SV, Basualdo JA. Capítulo 109. *Leishmania*. En: Microbiología biomédica. Bacteriología, Micología, Viroológica, Parasitología, Inmunología. 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Atlante, 2006; pp.1115-1125.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Chapter 23. Microbial diseases of the cardiovascular and lymphatic systems, In Microbiology. An introduction, 8th ed. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, 2004; pp. 640-674.

Contenidos

Definición. Agente etiológico. Ciclo evolutivo. Modalidades de contagio. Reservorios. Manifestaciones clínicas. Toxoplasmosis adquirida. Toxoplasmosis congénita. Manifestaciones bucales. Diagnóstico. Prueba de Sabin-Feldman. Otros métodos. Nociones de tratamiento.

Objetivos

- Mencionar el agente etiológico y describirlo.
- Citar modalidades de contagio.
- Describir las manifestaciones.
- Enumerar los métodos de diagnóstico.

DEFINICIÓN

La toxoplasmosis humana es una zoonosis de distribución mundial, cuyo agente etiológico es un protozoo, *Toxoplasma gondii*, descubierto por Nicolle y Manceaux en 1908. La magnitud del daño que puede llegar a producir y el polimorfismo de sus manifestaciones clínicas justifican el creciente interés por el estudio de esta parasitosis común al hombre y a los animales. Se la ubica como una enfermedad de la sangre y vasos linfáticos.

AGENTE ETIOLÓGICO. CICLO EVOLUTIVO

Este parásito del *phylum Apicomplexa* es de vida intracelular obligatoria que mide de 5 a 7 μm de longitud y de 2 a 3 μm de ancho, y tiene forma arqueada (en media luna), posee una extremidad redondeada y la otra deshilachada. Parásito del protoplasma celular y nunca del núcleo, se reproduce por división binaria y ésta acontece en el interior de las células o de los quistes.

El parásito posee movimientos que le permiten atravesar las membranas celulares y acceder al ámbito protoplasmático. En el ciclo evolutivo de la infección los toxoplasmas se presentan en dos formas: la vegetativa y los quistes (fig. 26-3).

Modalidades de contagio

La universalidad de *T. gondii* es indiscutible y las posibilidades de que llegue al hombre son múltiples.

La transmisión se hace por vía oral o congénita, aunque también podría hacerse por medio de transfusiones o inoculación accidental.

Se considera que el 40% de la población está infectada.

Reservorios

Los reservorios de este microorganismo son mamíferos domésticos, animales homeotermos, como el gato, el perro y los ganados lanar, vacuno y porcino. Las aves y los roedores también pueden servir como reservorios. Los animales constituyen la fuente más importante de contagio y propagación. El gato desempeña un importante papel en la cadena epidemiológica de la enfermedad; en estos animales, la infección no causa enfermedad, se sospecha que éstos adquieren la infección por comer roedores infectados (fig. 26-4). La contaminación accidental (inoculación por punción en el laboratorio) y la infección transplacentaria, causal de toxoplasmosis congénita, son otras modalidades de contagio.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Existen dos tipos de toxoplasmosis humana; a saber, la adquirida y la congénita.

Toxoplasmosis adquirida

La frecuencia de la enfermedad por toxoplasmas nada tiene que ver con la frecuencia de la infección por toxoplasmas, dado que esta última es asintomática y sólo detectable por la positividad de las pruebas serológicas.

La enfermedad por toxoplasmas reconoce dos grandes períodos: el agudo y el crónico. El primero se caracteriza por parasitemia, invasión y lisis celular con ulterior parasitación de nuevas células. El proceso es panvisceral, pero selectivo a nivel del sistema reticuloendotelial (SRE) y del sistema nervioso central (SNC).

Formas clínicas de la toxoplasmosis adquirida aguda

Forma ganglionar

Descrita por Siim en 1951, la toxoplasmosis ganglionar se observa en el adulto joven y debe ser considerada la forma más frecuente de la enfermedad. La evolución es favorable y muchos casos involucionan de modo espontáneo. Está constituida por:

- *Síndrome ganglionar.* Las adenopatías, que representan el signo principal, aparecen en forma progresiva y persisten hasta varias semanas o incluso meses. Los grupos ganglionares más afectados son los cervicoccipitales y los axilares, a veces bilaterales y simétricos. Las adenopatías son regulares, móviles e indoloras y no supuran.

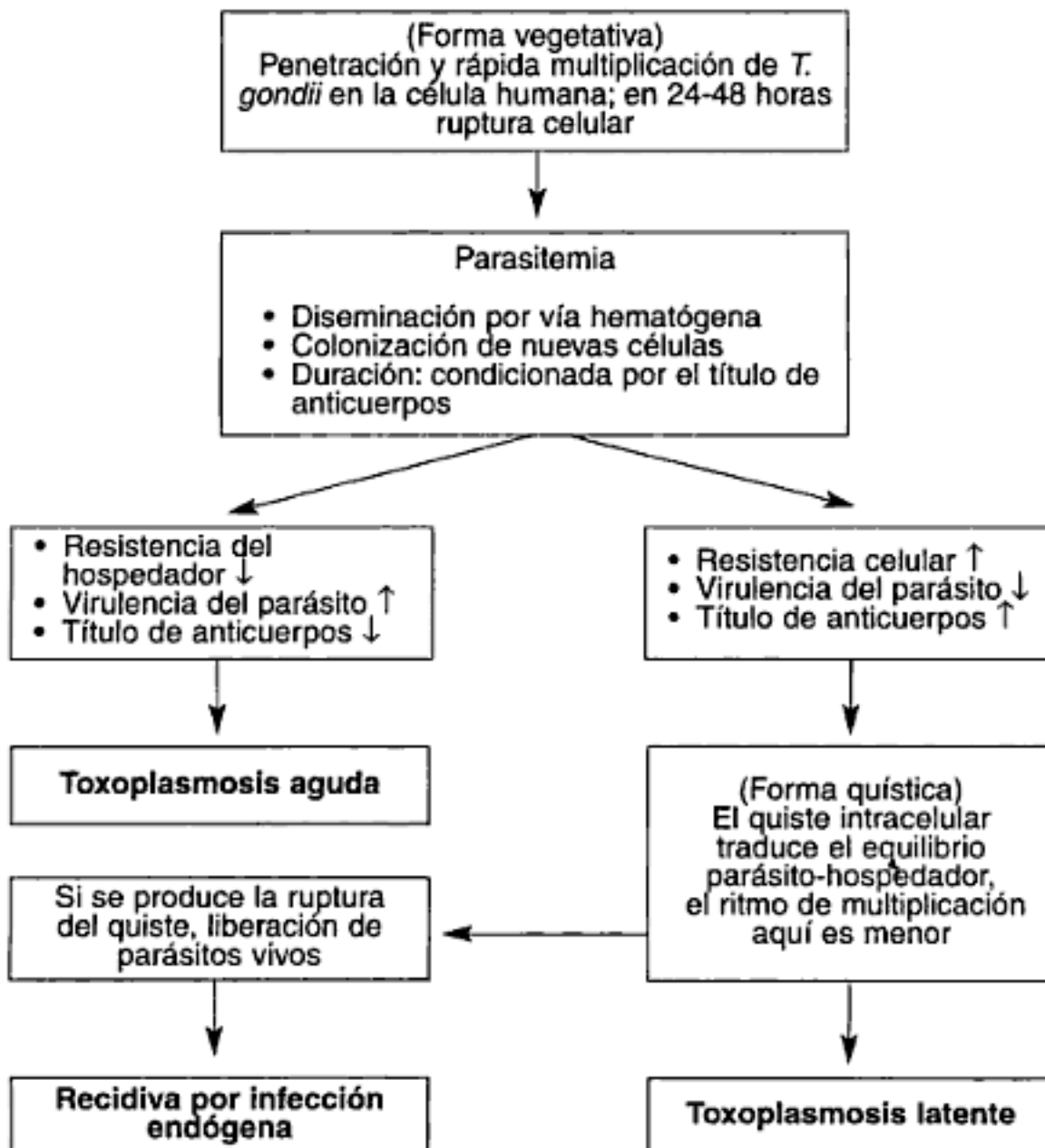


Fig. 26-3. Ciclo evolutivo de la infección por *Toxoplasma*.

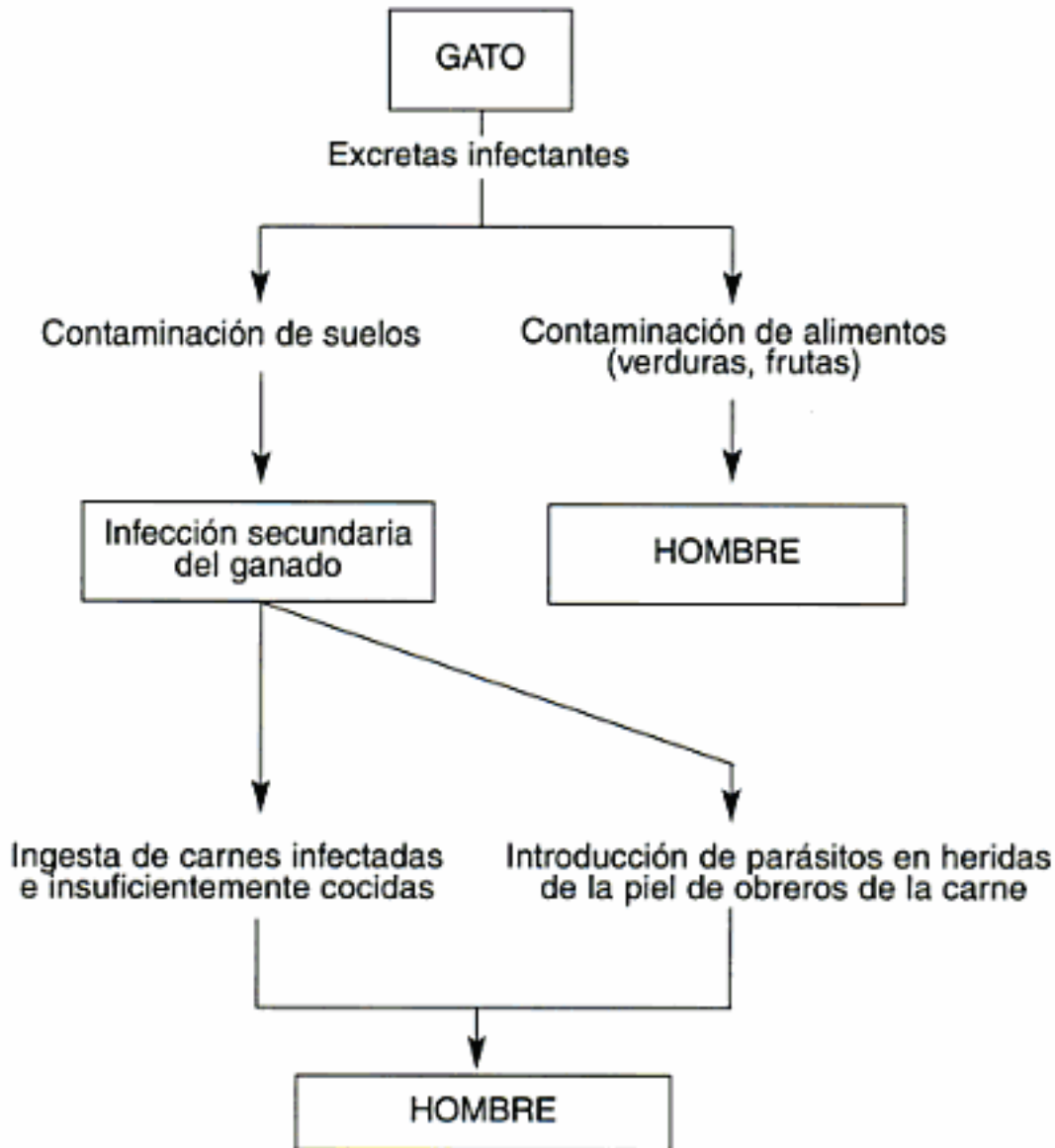


Fig. 26-4. Cadena epidemiológica de la toxoplasmosis.

- *Síndrome general*. Consiste en hipertermia, angina eritematosa, poliartalgias y, a veces, exantemas fugaces. Estos síntomas pueden preceder al infarto ganglionar.
- *Esplenomegalia* (agrandamiento del bazo). Este hallazgo es inconstante.

Forma exantemática

Esta forma, que es de curso grave y de difícil diagnóstico, es mortal en más del 90% de los casos. Entre los signos sobresalen una erupción maculopapulosa de distribución universal, localizaciones nerviosas, compromiso del hígado y el bazo, miocarditis aguda y lesiones pulmonares difusas.

Forma ocular

Es posible arribar al diagnóstico de retinocoroiditis aguda por toxoplasmas cuando se descartan otras etiologías y se constata un perfil inmunodiagnóstico realmente significativo.

Toxoplasmosis crónica

El período crónico de la toxoplasmosis adquirida se caracteriza por la formación de quistes; el cerebro es el sitio de infección residual más común, seguido por el hígado, el SRE, los ganglios linfáticos, etcétera.

Las distintas formas clínicas (encefálica, ganglionar, miocárdica), todas de escasa frecuencia, pueden observarse en aquellos casos de toxoplasmosis en los que, con los parásitos en estado de inactividad, en un momento dado se produce la ruptura de los quistes, con liberación de parásitos vivos; las manifestaciones clínicas se asocian con perfiles inmunológicos que indican nueva actividad de *T. gondii*.

En los enfermos HIV, los defectos inmunológicos hacen que la infección se haga aparente y con especial predilección por el SNC.

Toxoplasmosis congénita

La toxoplasmosis congénita es consecuencia de

la infección materna primaria durante el embarazo. La gravedad de la enfermedad depende de:

- La forma clínica de la toxoplasmosis materna.
- La edad de la gestación.
- La virulencia de la cepa infectante.
- La mayor o menor rapidez con la que son elaborados los anticuerpos maternos y transmitidos al producto de la concepción.

La enfermedad debe ser investigada de manera sistemática en toda mujer embarazada y con mayor razón cuando la historia clínica de la paciente evidencie abortos reiterados, partos prematuros o muerte fetal intrauterina.

La toxoplasmosis crónica uterina sería la causa fundamental en la transmisión de la toxoplasmosis congénita; la ruptura de los quistes endometriales produciría la invasión embriofetal a través de la placenta y contaminaría el líquido amniótico, que luego sería aspirado por el feto.

La infección del producto de la gestación puede dar como resultado:

- Muerte intrauterina.
- Parto prematuro.
- Muerte posparto inmediato.
- Nacimiento de un niño con encefalopatía, lesiones oculares o calcificaciones intracraneanas (tríada de Sabin).
- El niño puede nacer aparentemente sano y mostrar un retardo intelectual, alteraciones de la visión y escasa maduración psicomotora en su desarrollo posterior.

Manifestaciones bucales

En algunos casos junto con el exantema se observan elementos vesiculosos múltiples, en especial en la mucosa yugal, con el aspecto de una lesión viral herpetiforme. Otra característica llamativa es la congestión del paladar blando, que contrasta con el color del paladar duro.

Algunos autores han hallado toxoplasmas en la musculatura lingual y otros los han encontrado en la saliva; es posible que las lesiones bucales asociadas con esta enfermedad pasen inadvertidas, pues la incidencia de infección es grande en todos los países.

DIAGNÓSTICO

Es fundamental estudiar las alteraciones inmunológicas que provoca *Toxoplasma gondii* en el organismo, porque el diagnóstico se basa en su hallazgo.

Existen varias reacciones importantes: la de Sabin-Feldman, la de fijación del complemento, la de hemaglutinación, la de inmunofluorescencia, etcétera.

Las técnicas moleculares, como la PCR (véase cap. 28), se han agregado a los métodos de diagnóstico.

Prueba de Sabin-Feldman

Normalmente *Toxoplasma gondii* se colorea en su totalidad con el azul de metileno, pero bajo la acción de los anticuerpos del suero del paciente sólo se colorea el núcleo. Se trata de una lisis del parásito por los anticuerpos.

Se hacen diluciones progresivas del suero del paciente y se las pone en contacto con toxoplasmas vivos. Si la reacción es positiva, todos los parásitos se lisan. El título de positividad lo da la menor dilución del suero que produce la lisis de más del 50% de los toxoplasmas. La prueba de Sabin-Feldman es altamente específica y sensible.

Otros métodos

La fijación del complemento es una prueba de mucha utilidad; basta un título mayor de 1/10 para que la prueba se considere positiva.

La reacción de inmunofluorescencia para IgM es de indiscutible valor diagnóstico; en la enfermedad adquirida se consideran positivos títulos superiores a 1/10; los anticuerpos aparecen en una fase temprana y desaparecen antes del año. Junto con una reacción de Sabin-Feldman positiva (mayor de 1/256) y una fijación del complemento mayor de 1/10, el diagnóstico de actividad de los toxoplasmas es incontrovertible.

La hemaglutinación indirecta es específica, pero no tan sensible.

También se utilizan técnicas de aglutinación y de ELISA (véase cap. 31-6).

NOCIONES DE TRATAMIENTO

La droga de elección es la pirimetamina (un antipalúdico de síntesis que actúa como antagonista del ácido fólico e impide la síntesis de DNA parasitario). La dosis aconsejable es de 100 mg el primer día, 50 el segundo día y 25 los siguientes. La duración del tratamiento es de 2 a 3 semanas. La pirimetamina debe usarse en asociación con sulfamidas (aproximadamente 1 g diario), porque éstas potencian sus efectos.

El uso de la pirimetamina exige controles hematológicos seriados por su toxicidad sobre la

ENFERMEDADES DE ETIOLOGÍA PARASITARIA

3º PARTE

ENFERMEDAD DE CHAGAS O TRIPANOSOMIASIS AMERICANA

Marta Negroni y Carlos Aceto

Contenidos

Definición. Etiología. Reservorios. Epidemiología. Manifestaciones clínicas. Periodo agudo (enfermedad de Chagas aguda). Periodo crónico (enfermedad de Chagas crónica). Enfermedad de Chagas post-transfusional. Enfermedad de Chagas congénita. Diagnóstico de laboratorio. Nociones de tratamiento. Etiológico. Sintomático. Profilaxis.

Objetivos

- Mencionar el agente etiológico.
- Describir su ciclo y mecanismo de transmisión.
- Citar las características clínicas de esta enfermedad.
- Enumerar métodos de diagnóstico.
- Comentar las medidas preventivas y definir la importancia odontológica.

DEFINICIÓN

La enfermedad de Chagas es una parasitosis endémica americana producida por un parásito (*Trypanosoma cruzi*) y transmitida al hombre y a los animales por insectos del género *Triatoma* (vinchucas) y otros triatomídeos. Existe una forma de infección aguda (de desarrollo en la infancia) y una forma crónica con severas secuelas miocárdicas (que se manifiestan en el adulto).

Es una enfermedad del sistema cardiovascular.

ETIOLOGÍA

Trypanosoma cruzi (perteneciente al *phylum Sarcostigophora*) se presenta como "tripomastigota" o forma alargada flagelada (en la sangre circulante del hombre y los animales vertebrados) y como "amastigota" intracelular o forma redondeada aflagelada (en los tejidos del hombre o los animales vertebrados). El aspecto de tripomastigota también lo presenta en el intestino de las vinchucas, al igual que la forma epimastigota. Estos insectos eliminan los parásitos con sus deyecciones en la forma de tri-

pomastigotas metacíclicos, amastigotas o esfero-mastigotas y epimastigotas (fig. 26-5).

RESERVORIOS

El ser humano infectado en forma crónica es el reservorio más importante, aunque los animales domésticos, como el perro, también lo son.

EPIDEMIOLOGÍA

Las vinchucas (nombre vulgar de *Triatoma infestans*) son insectos triatomídeos hematófagos que al picar al hombre (o a otros animales vertebrados) para chupar su sangre y alimentarse defecan sobre la piel con deyecciones cargadas de parásitos (estación posterior). Se trata de insectos antropofílicos.

Las vinchucas pican a las primeras personas en zonas descubiertas (los miembros, la cara) y al rasarse la picadura o refregarse la cara es la persona misma la que introduce al parásito por las excoriaciones de la piel o por las conjuntivas oculares.

La infección intrauterina puede originar un aborto, un parto prematuro o un nacido en término de bajo peso con títulos altos de IgM inespecíficas en sangre, hepatoesplenomegalia, ictericia (coloración amarillenta de la piel y las mucosas por aumento de la bilirrubina en sangre) y a menudo un grave compromiso neurológico.

La mortalidad en zonas endémicas llega al 50%.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico de laboratorio requiere la demostración del parásito en sangre por:

- a) Examen microscópico de:
 - Gota gruesa.
 - En fresco de plasma centrifugado (método de Srout).
- b) Separación del parásito por gradientes de densidad.
- c) Hemocultivo en medio de Warren.
- d) Xenodiagnóstico (búsqueda del parásito en heces de vinchucas estériles a las que se hace picar al enfermo).
- e) Biopsia de órganos afectados.
- f) Inoculación en animales.
- g) Demostración de los antígenos parasitarios en sangre por ELISA o contraelectroforesis (véase cap. 31-6).

Demostración de los anticuerpos específicos en sangre por:

- a) Inmunofluorescencia indirecta.
- b) Aglutinación directa (muy útil en la enfermedad de Chagas congénita).
- c) Hemaglutinación indirecta para antígenos de superficie o citoplasmáticos.
- d) Reacción de fijación del complemento.
- e) Aglutinación con látex.
- f) ELISA (véase cap. 31-6).

En la etapa crónica, como la parasitemia es baja, los métodos directos no son de utilidad.

En las zonas endémicas se consideran diagnósticos los títulos de 1:32 a 1:64 de las reacciones de aglutinación directa, hemaglutinación indirecta o inmunofluorescencia, con los que se descartarían anticuerpos no debidos a *Trypanosoma cruzi*.

Como los antígenos utilizados no son totalmente específicos, deben realizarse tres reacciones sero-

lógicas simultáneas de las que por lo menos dos deben ser positivas y presentar los títulos ya señalados.

Las técnicas moleculares de PCR para identificar el DNA parasitario son muy específicas, pero muy costosas.

NOCIONES DE TRATAMIENTO

Etiológico

Este parásito responde a:

- a) Nifurtimox (Lampit®) durante 90 días.
- b) Benznidazol (Radanil®) durante 60 días.

Ambos fármacos producen efectos adversos importantes. La eliminación de la parasitemia se comprueba con el xenodiagnóstico; su resultado negativo indica la remisión de la enfermedad.

Las mayores posibilidades de éxito terapéutico dependen del diagnóstico precoz y del tratamiento temprano con las drogas mencionadas. El tratamiento sólo es efectivo en la etapa aguda; ningún antichagásico podrá combatir al parásito en la etapa crónica de la enfermedad, dado que los parásitos se ubican y multiplican intracelularmente.

Sintomático

Se tratan los problemas cardíacos con el auxilio de distintas drogas o dispositivos.

PROFILAXIS

Las medidas profilácticas consisten en:

- Eliminar las viviendas de paja y barro, y reemplazarlas por casas de material.
- Educación sanitaria de la población.
- Erradicación del vector.
- Mejorar las condiciones peridomiciliarias, haciéndolas no aptas para la vinchuca; rociar con insecticidas como Gamexane® (hexaclorociclohexano).
- Incluir preguntas en la historia clínica odontológica para averiguar si un enfermo puede ser chagásico por las posibles alteraciones cardíacas que pudiera padecer.
- Control de bancos de sangre y de trasplantes.

Contenidos

Etiología. Epidemiología o transmisibilidad. Patogenia. Complicaciones de la infección por plasmodios. Manifestaciones clínicas. Diagnóstico. Nociones de tratamiento. Profilaxis.

Objetivos

- Citar los agentes etiológicos de esta enfermedad.
- Mencionar el tipo de ciclo del parásito.
- Enunciar los mecanismos de transmisión.
- Describir la patogenia.
- Enumerar las medidas preventivas.

INTRODUCCIÓN

La palabra **malaria**, como también se denomina al **paludismo**, se relaciona con el “mal aire” de los pantanos (donde se reproduce el mosquito vector *Anopheles*) y con las infecciones humanas por parásitos del paludismo, *Plasmodium*.

Las primeras referencias al paludismo son descripciones de esplenomegalias con fiebre en la China de 1700 a. C. y en Egipto en el papiro de Ebers en 1570 a. C. Hipócrates reconoció el síndrome del paludismo y su relación con los pantanos. En los Estados Unidos esta enfermedad fue endémica en los siglos XVIII y XIX. En la actualidad el paludismo todavía es un flagelo abrumador en países tropicales en desarrollo, con 200 a 300 millones de casos y 1 a 2 millones de muertes al año. Su aumento también se atribuye a la exacerbación de casos detectados en enfermos con SIDA.

ETIOLOGÍA

El paludismo es una enfermedad parasitaria que se produce cuando los glóbulos rojos son invadidos por algunas de las cuatro especies de *Plasmodium*

(*P. falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. vivax*). La invasión ocurre a todas las edades y los microorganismos invasores suelen ser farmacorresistentes.

Los *plasmodios* pertenecen al grupo *esporozoos*.

La microscopia óptica de frotis sanguíneos teñidos con Giemsa es el método de elección para diagnosticar el paludismo e identificar la especie infectante.

Generalmente, *P. falciparum* provoca parasitemias abrumadoras por invasión de los glóbulos rojos. Se cree que el humano recientemente ha sido parasitado por esta especie a través del contacto con pájaros. El paludismo por *P. falciparum* puede afectar a personas de cualquier edad, es farmacorresistente y además el riesgo de muerte es más alto que en el caso de las infecciones causadas por *P. ovale*, *P. malariae* o *P. vivax*.

El mecanismo de adherencia de los glóbulos rojos parasitados a través de saliencias de su superficie a las células endoteliales de los capilares fue demostrado por microscopia electrónica de transmisión; este fenómeno de citoadherencia es la base de la patogenia microvascular observada en el cerebro, los riñones y otros órganos afectados en el paludismo por *P. falciparum*.

EPIDEMIOLOGÍA O TRANSMISIBILIDAD

La epidemiología del paludismo depende de las demandas del ciclo vital del parásito, que requiere reservorios constituidos por seres humanos infectados y no infectados, vectores *Anopheles* competentes y múltiples oportunidades de contacto entre el vector y su hospedador humano.

Al picar al ser humano la hembra del mosquito *Anopheles* (en la cual se cumplió el ciclo sexuado del parásito) inyecta **esporozoítos** los que, a los 30 minutos, llegan al **hígado** y allí dan origen por esquizogonia a **quistes** y posteriormente liberan los **merozoítos**, los que penetran en los hematíes y allí originan **ciclos asexuados con crisis de hemólisis**. Estos ciclos se cumplen y reinician cada 48 o 72 horas según los diferentes agentes etiológicos.

Algunos merozoítos se diferencian en formas sexuadas que al ser ingeridas por la hembra *Anopheles* completan el ciclo sexual en ésta, al picar el mosquito a otro ser humano inyectan **esporozoítos infectantes**.

Ésta es la forma habitual de contraer la enfermedad, pero existen formas menos frecuentes de contagio, a saber, **por transfusión de sangre, o por la inoculación de material contaminado con sangre** de enfermos al cortarse o pincharse con una aguja contaminada, especialmente en drogadictos.

También puede haber transmisión trasplacentaria.

PATOGENIA

El paludismo por *P. falciparum* es una enfermedad microvascular con un fuerte compromiso metabólico ya que la adherencia de los glóbulos rojos infectados por *P. falciparum* a las células endoteliales de los capilares y las vénulas provoca obstrucción vascular funcional. Las citocinas como el TNF α (factor de necrosis tumoral α) aumentan la adherencia y la obstrucción al flujo. La enfermedad se asocia con compromiso metabólico, porque hay un consumo exagerado de glucosa (hipoglucemia); además, debido a la lisis de los glóbulos rojos hay anemia con marcada hipertermia.

Complicaciones de la infección por plasmodios

Es posible que la infección alcance el SNC y produzca paludismo cerebral con convulsiones y coma. En otros enfermos se constata una insuficiencia renal.

Como se dijo, puede haber anemia severa. Algunos casos de esta enfermedad se acompañan de edema pulmonar o gastroenteritis.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La fiebre cíclica constituye el rasgo distintivo del paludismo y esta hipertermia se produce cuando se rompen los glóbulos rojos, los que liberan merozoítos y compuestos tóxicos.

Existen signos clínicos que definen la enfermedad.

1. Hay un "estadio de frío o escalofríos" que dura de 15 minutos a varias horas.
2. Hay un "estadio caliente" con fiebre de 40 °C o más, y riesgo de convulsiones y daño cerebral hipertérmico. Los signos y los síntomas clínicos son taquicardia, hipotensión, tos, cefalea, dorsalgia, náuseas, dolor abdominal, vómitos y diarrea.
3. En 2 a 6 horas el paciente se recobra de esos signos y aparece el "estadio de sudoración".

DIAGNÓSTICO

Típicamente el paludismo se diagnostica por examen microscópico de un frotis fino de sangre o por la técnica de gota gruesa, pero en la actualidad se utilizan técnicas alternativas de sensibilidad igual o mayor, como el análisis de inmunosorción ligada a enzimas (ELISA) y otras.

NOCIONES DE TRATAMIENTO

Los antipalúdicos más importantes son:

- a) Los derivados de la quinolona:
 - Cloroquina.
 - Quinina.
 - Mefloquina.
 - Halofantina.
- b) Antifólicos:
 - Primetamina.
 - Sulfonamidas.
- c) Inhibidores ribosómicos:
 - Tetraciclinas.
 - Clindamicina.

PROFILAXIS

Se realizará la **profilaxis de toda persona que deba viajar y permanecer corto tiempo en una zona endémica**. La medicación comienza con derivados de la quinolona una semana antes del viaje y se mantiene hasta 6 semanas después de haber salido de la zona.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las manifestaciones clínicas de la miasis varían mucho no sólo según la especie de larva, sino también de acuerdo con la localización de la infestación. La miasis puede ser una enfermedad benigna, leve e incluso asintomática, o bien, gravísima.

La puerta de entrada la constituye, en general, la piel, donde se produjo la picadura del insecto.

El período de incubación es variable; según la especie que causó la picadura va desde 7 a 10 días o más; algunas alcanzan los 40 a 50 días.

Las larvas pueden parasitar la piel, el tracto vaginal/urinario, el tracto gastrointestinal y varias cavidades del cuerpo, como la nasofaringea, los senos, los ojos, los canales auditivos y, con menor frecuencia, la boca.

La **enfermedad cutánea** producida por larvas puede presentarse en cualquiera de las siguientes formas:

1. **Una lesión furunculosa**, que se desarrolla en el sitio de la picadura de un insecto o sobre un traumatismo; las larvas residen en la dermis y provocan pápulas, o nódulos dolorosos o pruriginosos y eritematosos que drenan una secreción serosanguinolenta. Los nódulos están rodeados por un orificio a través del cual la larva respira y por el cual puede protruir.
2. Una **"erupción reptante"**, en la cual la larva produce una línea dolorosa y eritematosa en su camino a través de la piel.
3. **Una infestación de una herida abierta y tejido necrótico**, que puede producir purulencia e infección secundaria.
4. Las larvas de las moscas también pueden desarrollarse en el exterior de la piel, normalmente en los pliegues, donde se alimentan de restos de piel acumulados. Este tipo de infestación aparece con mayor frecuencia en individuos con erupciones eccematosas o higiene personal deficiente.

El compromiso orificial de sitios, tales como el oído, la nariz, la uretra, las **encías** o la vagina, puede producir problemas severos. En algunos casos la migración hacia órganos internos (cerebro) puede ser discapacitante u ocasionar la muerte.

En la mucosa bucal se describen miasis con asiento en el paladar o la encía, donde produce lesiones ulcerosas en las que pueden observarse gusanos blancos, segmentados y móviles.

La lesión palatina puede llegar a involucrar los senos nasales.

La evolución es variable y con frecuencia se infectan secundariamente con diferentes bacterias.

NOCIONES DE TRATAMIENTO

La miasis suele tratarse con **desbridamiento o escisión; las lesiones furunculosas también pueden ser tratadas obliterando el orificio cutáneo**, que es la fuente de oxígeno de la larva, con grasa de cerdo o vaselina, lo que hace que la larva emerja de la piel para evitar la asfixia.

PREVENCIÓN

La mejor manera de prevenir la miasis es **erradicar las moscas** responsables de la enfermedad.

Las heridas abiertas deben ser cubiertas adecuadamente y los pacientes deben permanecer dentro de las casas, lejos de las áreas infestadas por las moscas.

Se requiere una **higiene muy cuidadosa y es preciso evitar traumatismos o tejidos necróticos.**

Los niños que utilizan **aparatos de ortesis no deben dejarlos expuestos debido a la posibilidad de que las moscas depositen sus huevos en ellos.** Al ser colocados luego en la boca, estos huevos con el calor y la humedad de la zona evolucionarían a larvas.

Resumen

Las miasis son parasitosis ocasionadas por larvas de distintos géneros de moscas (dípteros). Estas parasitosis pueden ser específicas, semiespecíficas o accidentales. Excepcionalmente hay manifestaciones en la boca. No hay tratamientos específicos; las medidas higiénicas representan la mejor arma.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué patologías pueden desencadenar las moscas?
2. ¿De qué forma pueden adquirirse estas patologías?
3. ¿Qué características pueden tener en la boca?
4. ¿Qué medidas terapéuticas y preventivas existen?

Problema 26-1

Se presenta un paciente de 54 años, sexo masculino, procedente del NE de la Argentina, trabajador rural. Consulta por una lesión destructiva de la zona del paladar blando. Está desnutrido, presenta múltiples adenopatías y acusa que, además, siente la nariz tapada. No recuerda cómo empezó, ni exactamente cuándo.

Se obtiene una muestra por raspaje de la zona, se realizan exámenes microscópicos coloreados con Gram y Ziehl-Neelsen. Se cultiva el resto del material para bacterias ácido-alcohol resistentes y para hongos.

En los exámenes microscópicos, no se ven bacilos AAR y se visualizan microorganismos grampositivos y negativos de la microbiota habitual de boca.

Los cultivos para bacterias AAR y para hongos son negativos.

Preguntas:

1. ¿Cuál puede ser el diagnóstico probable?
2. ¿Qué otros estudios deberían hacerse?
3. ¿Cómo pudo adquirirse la enfermedad?
4. ¿Por qué acusaba molestias nasales?
5. ¿Por qué no tiene referencias del comienzo de la enfermedad?
6. ¿Con qué otras patologías debe hacerse el diagnóstico diferencial?
7. ¿Pueden tomarse medidas preventivas?

BIBLIOGRAFÍA

Aceto C. Capítulo 25. Enfermedades de etiología parasitaria. Quinta parte: Miasis. En: Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica, 2ª ed. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana, 2003; pp. 434-436.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Capítulo 87: Artrópodos. Moscas que producen miasis. En: Microbiología médica. 5ª ed. España: Elsevier Mosby, 2006; p. 931.
Palmieri OJ. Capítulo 81: Miasis. En: Enfermedades infecciosas. Chile: McGraw Hill, 2001; pp. 504-506.

PARTE V



MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA APLICADA DE INTERÉS ODONTOLÓGICO

GUÍA PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRAS EN EL CONSULTORIO ODONTOLÓGICO

Marta Negroni

Contenidos

Condiciones para arribar al diagnóstico etiológico. Condiciones para establecer un diagnóstico presuntivo. Consulta con el laboratorio. Instrumental y elementos necesarios. Muestras representativas. Solicitud de diagnóstico. Envío de la muestra. El laboratorio. Interpretación. Diagnósticos de laboratorio. Causas de fracaso. Causas de rechazo de la muestra.

Objetivos

- Mencionar la utilidad práctica de la microbiología estomatológica.
- Describir en qué condiciones deben obtenerse las muestras.
- Citar qué tipo de diagnóstico es más importante en microbiología oral.
- Diferenciar bien los tipos de diagnóstico que pueden solicitarse.
- Enumerar los pasos necesarios para llegar a un diagnóstico de laboratorio.

INTRODUCCIÓN

Como se ha visto, la cavidad bucal y sus adyacencias pueden ser asiento de enfermedades infecciosas locales o sistémicas.

Si bien en la práctica diaria el profesional se enfrenta con estos problemas, lo usual es que los derive o trate de resolverlos empíricamente con la prescripción de algún antibiótico de "amplio espectro". Existe la creencia de que el diagnóstico etiológico demora la solución del proceso y en la mayor parte de los casos sólo se piensa en el estudio histopatológico. Sin embargo, este último no es útil en enfermedades como las que nos ocupan.

No siempre que se solicita un diagnóstico etiológico puede arribarse a él en forma concluyente. Para lograr el éxito es necesario seguir todas las etapas que se enumerarán a continuación.

CONDICIONES PARA ARRIBAR AL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO

Para arribar al diagnóstico etiológico correcto se necesita:

1. Un buen diagnóstico clínico presuntivo.
2. Una consulta con el laboratorio al que piensa remitirse la muestra.
3. Instrumental y elementos para recolección estériles y adecuados.
4. Un material representativo obtenido en condiciones de asepsia y remitido según las normas de bioseguridad.
5. Una detallada solicitud del diagnóstico.
6. Un correcto envío del espécimen.
7. Un laboratorio con capacidad para procesar el pedido.
8. La interpretación de los resultados para lograr la orientación terapéutica.

Condiciones para establecer un diagnóstico presuntivo

Para cumplir con la primera premisa el profesional, además de estar preparado para "leer" la mucosa, la semimucosa y los tejidos aledaños, debe recordar que en la boca conviven cerca de setecientos géneros y especies de microorganismos que en general no son patógenos, pero difi-

cultan la obtención de cultivos puros. Por otra parte, los microorganismos del género *Actinomyces*, los anaerobios u otros gérmenes pueden patogenizarse.

El conocimiento de la ecología bucal, de los signos y los síntomas de las distintas enfermedades infecciosas y de la epidemiología de éstas, así como la evaluación de estado del hospedador, son condiciones primordiales para poder establecer un diagnóstico presuntivo.

Es preciso tener presente el período habitual en que cursan estas afecciones.

Consulta con el laboratorio

La consulta previa con el laboratorio al que piensa remitirse el material es imprescindible para confirmar si lo pueden recibir, qué grado de identificación pueden realizar y si el horario en que aceptan los pedidos coincide con el momento en que va a obtenerse la muestra. Hay casos en los que las muestras deben ser procesadas con la mayor premura, como por ejemplo cuando se trata de microorganismos anaerobios, mientras que en otros casos los materiales no sufren alteraciones si se las preserva por unas horas (12 o 18) en el refrigerador (4 °C). Es conveniente averiguar si el laboratorio proporciona los envases para la remisión del material obtenido o si cuenta con normas escritas para tal fin.

Instrumental y elementos necesarios

Los elementos necesarios para extraer muestras generalmente están disponibles en todos los con-

sultorios e incluyen instrumental estéril compuesto por espejo, pinza, explorador, bisturí, curetas, tijeritas de cirugía, agujas para sutura, jeringas carpule con agujas, puntas de papel absorbentes, jeringas descartables de 10 mL, agua destilada y solución fisiológica estériles, antiséptico, desinfectante, algodón y gasas; excepcionalmente pueden necesitarse catéteres u otros elementos.

Los hisopos, los tubos, los diversos envases y los portaobjetos pueden adquirirse, estériles o no, en comercios o farmacias (fig. 27-1). Si estos elementos se compran sin esterilizar, deben ser sometidos al ciclo de esterilización junto con el instrumental. Es preciso disponer de algún envase protector para el traslado, de etiquetas para rotular y de solicitudes de pedido, las que muchos laboratorios ya tienen impresas.

Si se trata de gérmenes supuestamente anaerobios o muy exigentes, es necesario disponer de medios de transporte especiales (véase cap. 31-4).

Muestras representativas

Lo primero que debe recordarse para lograr muestras representativas es que el paciente no debe estar con tratamiento antimicrobiano durante, como mínimo, las 72 horas previas, si no se trata de un agente de liberación lenta.

En el caso de los materiales que van a obtenerse por vía bucal habrá que **minimizar la contaminación por microorganismos comensales** y para ello habrá que practicar una buena asepsia local.

Se utilizarán buches con antiséptico y agua destilada estéril, se facilitará el arrastre mecánico de la microbiota indígena con el auxilio de gasa estéril o



Fig. 27-1. Elementos que pueden tenerse en un consultorio a fin de obtener materiales para el diagnóstico microbiológico.

Siempre que se tengan en cuenta ciertas condiciones de obtención, tamaño y envío, las biopsias de cualquier tipo de lesión suelen ser las mejores muestras para establecer la etiología de una enfermedad. La cantidad de tejido que debe remitirse es mayor que la que se requiere para un estudio histopatológico, lo que se debe a que para este último la pieza fijada se incluye en parafina, con lo que pueden obtenerse numerosos cortes.

En el laboratorio de microbiología con dichos especímenes hay que realizar primero varias improntas en portaobjetos estériles con el fin de colorearlas con distintas técnicas (Gram, Ziehl-Neelsen, Giemsa, fresco, etc.). El resto, convenientemente triturado y suspendido, se siembra en baterías de tubos o cajas de petri con diversos medios de cultivo o se inocula en animales de experimentación.

Lo ideal es dividir la biopsia en dos trozos, uno de los cuales se incluye en formol para el anatomopatólogo y el otro, de aproximadamente 5 mm de diámetro, se introduce en un frasco estéril que contenga algún medio líquido para el traslado.

Dado que una biopsia es una pequeña cirugía, antes de realizarla es aconsejable **pedir como mínimo un hemograma, una glucemia y pruebas de protrombina u otras pruebas del proceso de coagulación**. Hay pacientes en los que una inmunodeficiencia es responsable de las infecciones u otros problemas que se detectan en la mucosa y en estos casos está contraindicada una cirugía.

Para extraer muestras periapicales puede accederse a través del conducto radicular. Se respetarán las normas de asepsia, se practicará un aislamiento absoluto y se procederá a colocar dos puntas absorbentes que se dejarán embeber durante 20 a

30 segundos, se retirará y se introducirá en un medio de transporte adecuado (véase cap. 20). Otra posibilidad consiste en recurrir a una punción transósea, la que se llevará a cabo en forma similar a otras punciones con los elementos adecuados para hueso.

Para la obtención de materiales para diagnóstico periodontal o de predicción de susceptibilidad a caries véanse los capítulos 19 y 20.

Una vez que se han extraído las muestras, en el momento de colocarlas en los envases debe procederse con las mismas maniobras que se utilizarían para una siembra, es decir, debe trabajarse al lado de un mechero Bunsen para flamear la boca de los frascos o los tubos al destaparlos y antes de volver a taparlos.

El tapón debe sostenerse entre el meñique y la palma de la mano para evitar que su parte interior toque alguna superficie no estéril (véase cap. 31-1).

El recipiente donde se coloca el material obtenido generalmente es de vidrio (tubo de ensayo o frasco), pero sería aconsejable que fuera de plástico resistente (estéril). Una vez desinfectada su superficie exterior, se lo ubica en el interior de otro envase con un cierre bien hermético y que sea resistente. Finalmente, se coloca el conjunto en el recipiente de envío, que debe ser bien rígido (de telgopor, cartón o madera), y lo ideal es que entre ambos haya algún material amortiguador (algodón u otro). Todo debe estar bien identificado (fig. 27-3).

Solicitud de diagnóstico

En general, se le presta poca atención a esta etapa que es tan importante como las anteriores.

La solicitud de diagnóstico debe estar confec-



Fig. 27-3. Forma de remitir una muestra bien identificada, con triple envase, extendidos y solicitud de pedido.

cionada de una manera que oriente al laboratorista hacia lo que desea investigarse. En ella deben consignarse el nombre del paciente, el sexo, la edad, la residencia habitual o pasada, la ocupación, los hábitos y los antecedentes farmacológicos (pasados y recientes), el estado general y bucal, los síntomas y los signos actuales, la evolución, el sitio preciso de la toma, cómo se la realizó y en qué se la envía, la fecha y la hora, si se le indicaron otros estudios y sus resultados, el número de historia clínica (si la tiene), el diagnóstico presuntivo y los datos completos del profesional solicitante. Esta solicitud se coloca en el interior de un sobre que acompañará al dispositivo con el material obtenido, pero nunca deberá colocarse dentro del envase que contiene la muestra.

Lamentablemente es común recibir una muestra sin protección y acompañada de un "papelito" en el que sólo figura el nombre del enfermo y la inscripción "cultivo y antibiograma".

Es imposible sembrar una muestra en los medios de cultivo adecuados para cada microorganismo, porque se invertiría un tiempo inútil y el costo sería excesivo.

El antibiograma no suele ser necesario. En términos generales debe conocerse el microorganismo causante y, a nivel de las manifestaciones orales, por el momento son poquísimos los agentes infecciosos que podrían ser resistentes a la terapéutica específica. Además, en su gran mayoría son bacterias anaerobias u hongos, para los que no hay métodos bien estandarizados para establecer la sensibilidad a los antimicrobianos (véase cap. 31-5).

Los supuestos casos de resistencia son muy ocasionales y pueden ser atribuidos a diagnósticos erróneos, a terapéuticas incorrectas o a pacientes que no realizan el tratamiento como se les indica.

Envío de la muestra

Correcto envío del material

Esto requiere sobre todo celeridad, pero además prolijidad e identificación.

Lo ideal sería que las extracciones se realizaran en el mismo laboratorio. Sin embargo, es difícil que se cuente con instalaciones adecuadas o con personal suficiente para ejecutar ambas prácticas.

Es necesario tomar conciencia de que en la actualidad es imprescindible trabajar en equipo.

En el caso de los gérmenes anaerobios el tiempo transcurrido entre la obtención de la muestra y el arribo al centro diagnóstico no debería ser mayor de 15 minutos. Con otros microorganismos puede demorarse más o incluso mantenerlos refri-

gerados por espacio de 12 a 18 horas sin que ello afecte el resultado como se mencionó. Por lo tanto, lo mejor es consultar de antemano con quien va a realizar el estudio.

Si se trata de una presunta micosis, el agregado de antibiótico antibacteriano a la solución fisiológica en la que se colocará la muestra evitará la proliferación de microorganismos propios de la boca o de áreas vecinas (véase cap. 9).

Los tapones deben estar bien ajustados; si fuera posible, tendrían que ser reemplazados por tapones de goma estériles o, mejor aun, por tapas de rosca herméticas.

El traslado debe hacerse en forma vertical, para impedir derrames o mojaduras si se mantienen los tapones de algodón.

En la parte exterior debe colocarse una etiqueta con el nombre del paciente y una flecha que indique cuál es la parte superior del envase, que debe ser conservado en esa posición. Además, debe llevar el logotipo de bioseguridad (fig. 27-3).

El laboratorio

Un laboratorio idóneo es aquel que cuenta con la aparatología mínima necesaria y el personal entrenado para realizar las distintas etapas del diagnóstico. Este personal debe poseer ciertos conocimientos clínicos para interpretar los datos del pedido y, además, conocer la ecología bucal. Es casi imposible que el microbiólogo general tenga este último conocimiento. Por lo tanto, el odontólogo solicitante debe poseer esos conocimientos.

Debe respetarse la identificación de las muestras y darles de inmediato un número de entrada. Deben seguirse las normas universales de bioseguridad para estas áreas a fin de evitar contaminaciones en esta etapa y preservar la salud de los profesionales y los técnicos.

No es indispensable disponer de un sinfín de reactivos o antiseros, pues para los fines prácticos es suficiente establecer el diagnóstico de género, al cual se arriba por medio del examen microscópico y de cultivos primarios o aquellos que permitan el aislamiento y alguna prueba adicional. Por ejemplo, en el examen microscópico el informe reza: se ven elementos bacilares o filamentosos grampositivos. En el cultivo se lee: hay desarrollo de gérmenes filamentosos catalasa-negativos compatibles con *Actinomyces*. Para establecer el tratamiento es indistinto que se trate de *A. israelii*, *A. odontolyticus* u otro.

La tipificación de especie, en general, es un proceso largo y costoso que sólo resulta útil con fines epidemiológicos o de investigación.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

1º PARTE

TÉCNICAS MOLECULARES

Susana Carnovale

Contenidos

Preparación de las muestras. Electroforesis. Técnicas de amplificación in vitro de ácidos nucleicos. Digestión del DNA utilizando enzimas de restricción (*restriction Fragment length polymorphism* RFLP). Hibridación. Secuenciación.

Objetivos

- Definir el concepto de técnica molecular.
- Describir sus fundamentos y aplicaciones.
- Enumerar las ventajas y desventajas.
- Explicar la técnica de extracción del material genético.
- Diferenciar los distintos métodos moleculares.

INTRODUCCIÓN

Las técnicas moleculares basadas en la caracterización física de moléculas, como los **ácidos nucleicos** presentes en los microorganismos, representan uno de los grandes avances del laboratorio de microbiología de los últimos años. Permiten distinguir e identificar cepas basándose en las diferencias de sus **genotipos**.

El **diagnóstico microbiológico convencional** incluye procedimientos, como la biotipificación y serotipificación. Estos métodos **fenotípicos** se basan en la detección de características expresadas por los microorganismos, como virus, bacterias, hongos y parásitos. Sin embargo, en algunas ocasiones resultan insuficientes, ya sea porque se trata de gérmenes no cultivables, o bien, porque el cultivo demora varias semanas en positivizarse. En el caso de las reacciones serológicas, algunas de ellas son imposibles de aplicar con el propósito de efectuar un diagnóstico microbiológico debido a su altísimo costo. Es en estas ocasiones cuando el diagnóstico molecular ha demostrado ser seguro, rápido, reproducible y discriminatorio, siempre que hayan sido cuidadosamente estandarizadas y controladas las técnicas a utilizar. Su aplicación permite la detección y la identificación de los

microorganismos sobre muestras de sangre, saliva, líquidos corporales y tejidos del paciente. En ciertas oportunidades es factible cuantificar el agente presente en la muestra, como ocurre por ejemplo con la detección de la carga viral. No obstante, esta metodología no debería reemplazar procedimientos de rutina que han demostrado ser útiles, rápidos, sensibles y de bajo costo.

Numerosos son los trabajos científicos en los últimos años dedicados al estudio genético y molecular con el fin de llegar al diagnóstico de enfermedades infecciosas, así como también para aclarar su patogénesis y su epidemiología. En este campo de la Epidemiología, los métodos basados en la **genotipificación** a partir de cultivos puros de microorganismos han demostrado ser de gran utilidad. Mediante el estudio del DNA es posible diferenciar aislamientos de microorganismos provenientes de una fuente común, como ocurre en los llamados **brotos nosocomiales**. El conocimiento de la fuente de infección, la forma de transmisión y puerta de entrada de las infecciones permitiría tomar medidas tendientes a evitar su futura presentación.

En este capítulo se describirán distintas técnicas moleculares, su aplicación, así como también sus ventajas y desventajas.

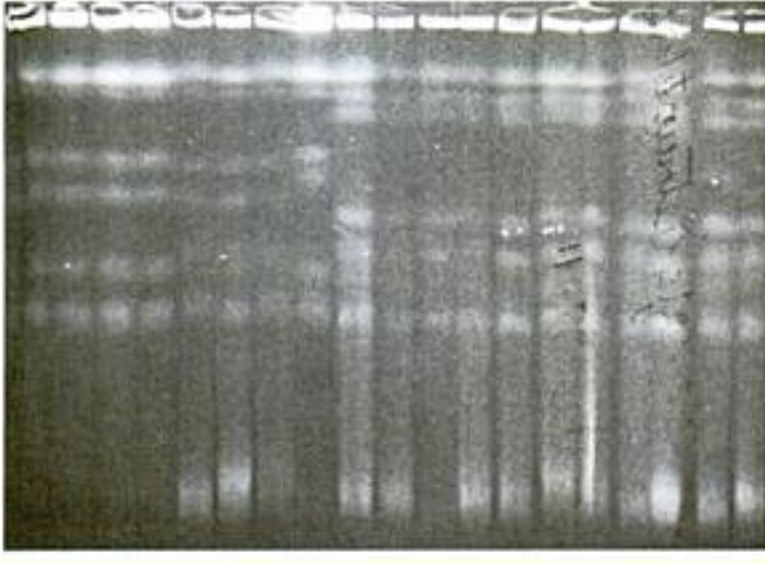


Fig. 28-6. Cariotipos: observación con bromuro de etidio.

hebras denominadas *primers*. De esta forma, en cada ciclo de reacción se duplica la cantidad del material genético presente en la muestra. Este proceso *in vitro* es muy similar al de la replicación del DNA que ocurre en las células *in vivo*. Es altamente específico y requiere volúmenes de reacción muy pequeños (25-50 μL).

Una reacción típica incluye como reactivos: la molécula de DNA de doble cadena llamada **templado**; una polimerasa termoestable (Taq); dos oligonucleótidos iniciadores o **primers**; una mezcla de desoxinucleótidos trifosfatos (dNTP); **buffer** de reacción y magnesio. La reacción se efectúa en un aparato llamado **termociclador**, el cual permite

cambios de temperatura en tiempos ínfimos. Esta técnica consta de las siguientes etapas:

1. *Desnaturalización* o separación de las cadenas, doble hélice, del ácido nucleico por calentamiento a 94 °C.
2. *Annealing* o hibridación. Como consecuencia de la disminución de la temperatura, los *primers* pueden unirse en forma estable con las hebras separadas del *templado* y servir como iniciadores para la síntesis de nuevas cadenas.
3. *Extensión*. Síntesis que comienza cuando se alcanza la temperatura de reacción de 72 °C, óptima para la actividad de la polimerasa.

Estos pasos se repiten por veinticinco o más ciclos y el producto final de esta reacción exponencial es un ácido nucleico de doble cadena que puede ser analizado en tamaño, secuencia y cantidad, o servir para aplicar otras técnicas moleculares (fig. 28-7).

Es preciso considerar que, a pesar de la gran sensibilidad y especificidad de este procedimiento, pueden producirse reacciones falsas positivas o negativas, por lo cual resulta indispensable efectuar controles durante su ejecución. Los factores que pueden alterar la eficacia y la especificidad de la PCR incluyen: la concentración de polimerasa y magnesio; la concentración y pureza de DNA y *primer*; las temperaturas de *desnaturalización*, *annealing* y *extensión*; el número de ciclos empleados (fig. 28-8).

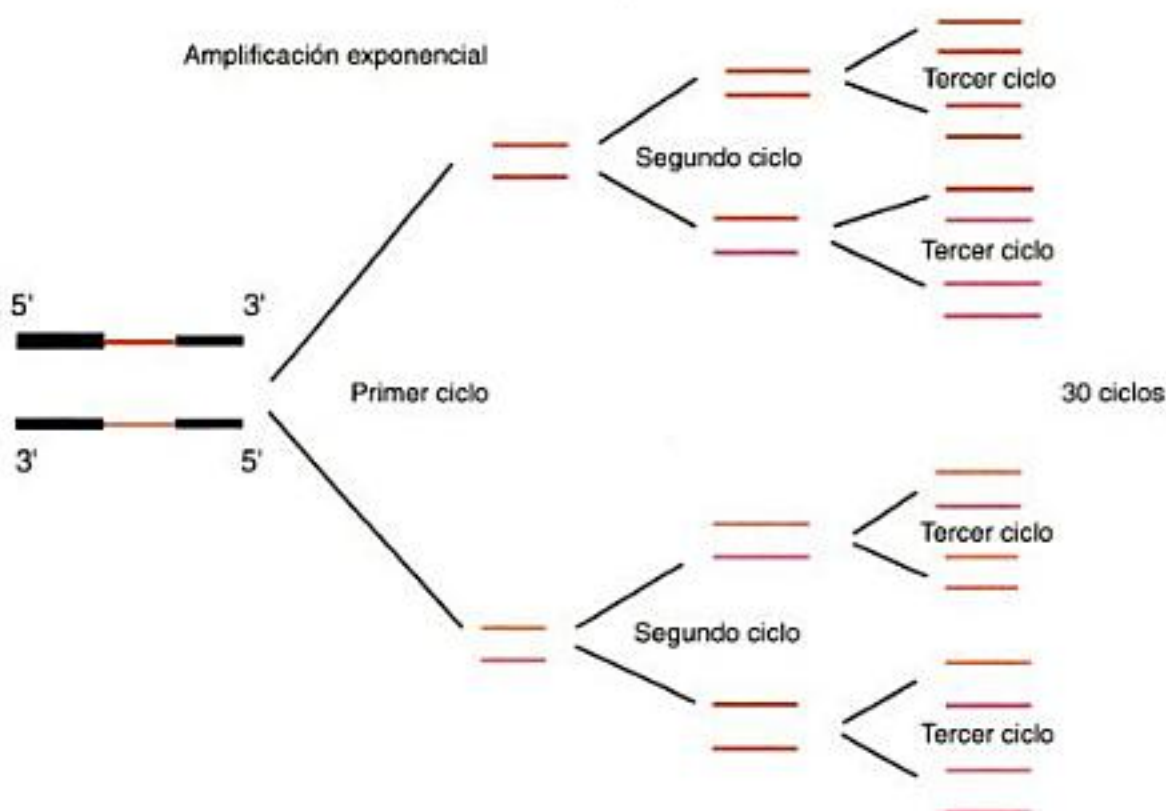


Fig. 28-7. Esquema de amplificación exponencial (PCR).

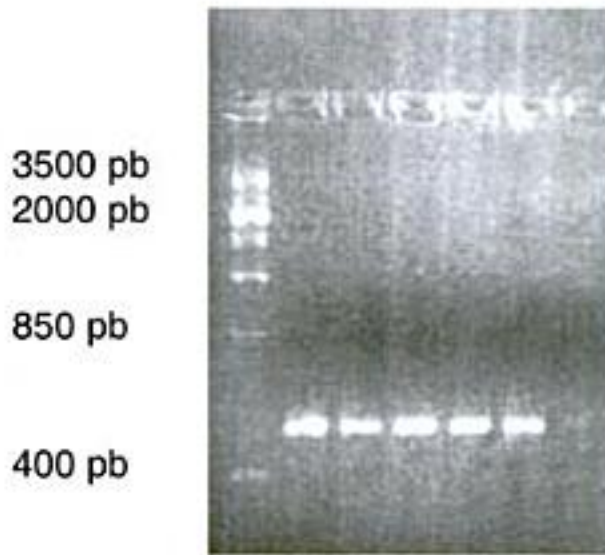


Fig. 28-8. Electroforesis en gel de agarosa de productos de PCR.

b. Amplificación aleatoria (random amplification of polymorphic DNA: RAPD)

La amplificación aleatoria del DNA se utiliza para desarrollar marcadores genéticos en distintas especies y para discriminar entre variedades y aislamientos de microorganismos patógenos. El fundamento de esta técnica es similar al de la PCR, pero utiliza cebadores o iniciadores (*primers*) aleatorios que son secuencias nucleotídicas de no más de 10 pb, para la amplificación arbitraria del ácido desoxirribonucleico genómico (DNA). No se busca ningún fragmento específico de DNA, ya que el cebador se hibrida "al azar", es decir, en secuencias complementarias de ubicación desconocida. Los fragmentos de DNA generados se separan y detectan mediante electroforesis en gel de agarosa (fig. 28-9). La elección de un cebador adecuado posibilita la obtención de patrones de bandas, cuya comparación constituye una herramienta epidemiológica para la investigación de fuentes de infección o vías de transmisión.

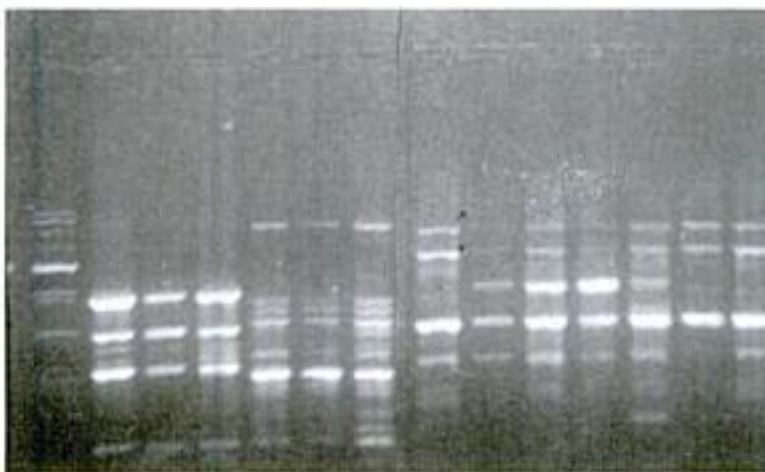


Fig. 28-9. RAPD y separación electroforética de fragmentos de ADN provenientes de aislamientos microbianos.

El número de fragmentos, la intensidad de amplificación y la reproducibilidad de los resultados dependen tanto de las condiciones de amplificación como de los componentes de la mezcla de reacción. De estas limitaciones se deduce la necesidad de someter la técnica a un proceso de puesta a punto en el que se definan las condiciones bajo las cuales los patrones obtenidos sean fiables y reproducibles.

Digestión del DNA utilizando enzimas de restricción (restriction fragment length polymorphism: RFLP)

La técnica conocida como polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción o RFLP permite no sólo diferenciar especies, sino también variantes genotípicas mediante el análisis de patrones producto de la degradación del DNA utilizando enzimas. Este método básico de la ingeniería genética molecular utiliza **restrictasas** que rompen el DNA en dianas o secuencias específicas. La molécula de DNA es digerida en diferentes sitios y da lugar a fragmentos definidos de diferente longitud, que dan origen a los llamados **patrones de restricción**, cuando son analizados por electroforesis. De esta manera, la técnica permite distinguir cepas a partir de los fragmentos de DNA obtenidos cuando esta molécula es digerida por una enzima de restricción en particular que reconoce secuencias concretas. Las regiones reconocidas difieren en secuencia, longitud y frecuencia. La primera **endonucleasa de restricción** se identificó en 1970, cuando accidentalmente se descubrió que la bacteria *Haemophilus influenzae* degradaba rápidamente el DNA de fagos extraños. Posteriormente, se purificó la enzima responsable y se la denominó **Hind I**. Algunas enzimas reconocen dianas para su actividad de cuatro bases, mientras que otras reconocen de seis bases. Los fragmentos generados al cortar el DNA con una **restrictasa** pueden separarse fácilmente por electroforesis en gel de agarosa. La velocidad de corrida de los fragmentos depende de la longitud de éstos mismos: los más pequeños migran mucho más rápido que los más grandes. Los así llamados **fragmentos de restricción** no sufren daños por su paso por el gel y la tinción con colorante de DNA (bromuro de etidio) los revela como una serie de bandas (fig. 28-10). Las restrictasas más útiles suelen ser las que producen pocos fragmentos fáciles de separar en geles de agarosa.

Hibridación

La formación de moléculas de doble cadena, cuyas hebras tienen distinto origen, recibe el nom-

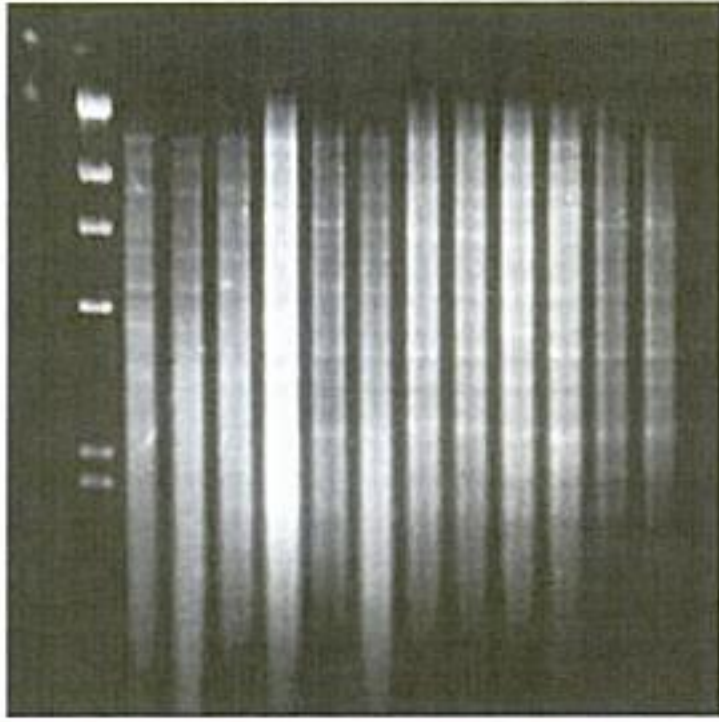


Fig. 28-10. FRLP. Patrones de restricción producto de la degradación del ADN con *Eco* RI.

bre de **hibridación**. Esta técnica puede ser utilizada para demostrar la relación genética de diferentes aislamientos. En el diagnóstico microbiológico, para la identificación y la confirmación de cultivos, o bien, para la detección de microorganismos en materiales clínicos. Estos métodos altamente específicos son más sensibles cuando son utilizados junto con técnicas de amplificación.

Se trata entonces de la formación de híbridos entre DNA y RNA, o entre un ácido nucleico y un oligonucleótido natural o sintético, siempre que las secuencias sean total o parcialmente complementarias. Estos ensayos requieren de dos elementos básicos: en primer lugar, la secuencia diana de ácido nucleico y, en segundo término, un fragmento corto de ácido nucleico llamado **sonda**, de secuencia conocida y complementaria a la secuencia diana. Las **sondas** son capaces de **unirse** o **hibridarse** con alta especificidad a secuencias complementarias de ácidos nucleicos, cuyas hebras han sido previamente separadas mediante desnaturación térmica. A su vez están marcadas con: a) enzimas, como por ejemplo la fosfatasa alcalina o peroxidasa; b) sustancias quimioluminiscentes; c) radioisótopos, como por ejemplo ^{32}P . Es posible encontrar métodos para la marcación de ácidos nucleicos disponibles comercialmente, como el caso de la marcación con biotina o digoxigenina. **Sondas** marcadas con sustancias quimioluminiscentes se encuentran disponibles en formatos comerciales, como por ejemplo el *AccuProbe*® desarrollado por Gen-Probe (San Diego, CA), que permiten la identificación rápida de cultivos.

Los ensayos de hibridación pueden clasificarse en: 1) **hibridación en fase líquida**, 2) **hibridación en soporte sólido** ("Dot blot" y "Southern blot") y 3) **hibridación in situ**. La **hibridación en fase líquida** emplea una muestra de DNA o RNA en disolución, al igual que la *sonda*. Es el método que menos se utiliza actualmente. La **hibridación en soporte sólido** es más sencilla de realizar y permite procesar varias muestras simultáneamente. La técnica denominada **Dot blot** posibilita, mediante la hibridación del DNA, una detección cualitativa del agente infeccioso en una muestra en estudio. Emplea un soporte sólido, como membranas o filtro de nylon o nitrocelulosa. La muestra se aplica gota a gota (**Dot blot**) sobre el filtro. Por otro lado, la denominada **hibridación in situ** comparte los mismos principios, aunque se realiza directamente sobre el tejido infectado (biopsia). Otra variante es la técnica de **Southern blot**, desarrollada por EM Southern en 1975, al que debe su nombre. Ésta permite determinar el peso molecular de fragmentos de restricción separados por tamaño utilizando electroforesis en gel. Dicha separación electroforética es transferida a un soporte sólido o filtro para su hibridación con la *sonda* marcada (fig. 28-11).

Secuenciación

El análisis de los ácidos nucleicos mediante la secuenciación es un arma extremadamente valiosa para relacionar filogenéticamente aislamientos microbianos.

Los primeros métodos para secuenciar ácidos nucleicos fueron el **químico**, de Maxam y Gilbert (1977) y el **enzimático**, de Sanger (1980). Estos procedimientos utilizan fragmentos del DNA original digeridos con enzimas de restricción. El DNA es marcado en forma radioactiva o con com-

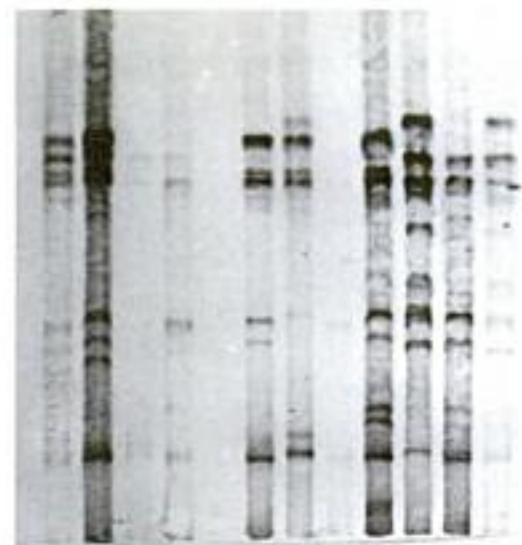


Fig. 28-11. Perfiles de restricción con *Eco* RI e hibridación.

puestos fluorescentes y los fragmentos son separados mediante electroforesis. Frecuentemente, las muestras se amplifican en primera instancia mediante la técnica de PCR a fin de disponer de suficiente cantidad para secuenciar.

El método enzimático de Sanger recurre a la interrupción controlada de la síntesis de una hebra complementaria durante una replicación *in vitro*, catalizada por una DNA polimerasa. Este procedimiento emplea un cebador que es un oligonucleótido dise-

ñado, el cual se hibrida a la región a secuenciar. La principal característica del método de secuenciación es el uso de *didesoxinucleótidos* que provocan la detención de la reacción de síntesis de DNA.

La posibilidad de utilizar un fluorocromo distinto para adenina trifosfato, guanina trifosfato, citosina trifosfato y timidina trifosfato permite automatizar el método mediante la lectura simultánea de la fluorescencia.

Cuadro 28-1. Principales características de las técnicas moleculares

Técnica	Características y aplicaciones
PCR	Amplificación en cadena de la polimerasa. Alta sensibilidad y especificidad. El producto final de esta reacción exponencial es un ácido nucleico de doble cadena que puede ser analizado en tamaño, secuencia y cantidad, o servir para aplicar otras técnicas moleculares. Se utiliza para la búsqueda de material genético de un agente infeccioso en una muestra clínica y para la identificación de aislamientos.
RAPD	Amplificación en cadena de la polimerasa <i>ad random</i> . Aplicación en estudios epidemiológicos. Se utiliza para la comparación de aislamientos pertenecientes a una misma especie, y para discriminar entre variedades y aislamientos de patógenos.
RESTRICCIÓN (FRLP)	Digestión del material genético con enzimas de restricción. Utilizada para generar patrones electroforéticos (marcadores genéticos) de aislamientos pertenecientes a una misma especie o a especies diferentes. Utilidad en Epidemiología Molecular.
CARIOTIPIFICACIÓN (PFGE)	Separación electroforética de cromosomas. Utilizada como arma epidemiológica para comparar genéticamente cepas pertenecientes a una misma especie y para diferenciar cepas pertenecientes a especies distintas. Resultados consistentes con los obtenidos por otras técnicas. Requiere una preparación más elaborada de la muestra y equipamiento especializado.
SOUTHERN BLOT	Transferencia de fragmentos de ADN originados por endonucleasas de restricción y posterior hibridación con una sonda marcada. Permite la comparación de patrones genéticos.
DOT BLOT	Técnica de hibridación. Detección cualitativa de un agente infeccioso en muestras de sangre, heces, esputos, etc.
SECUENCIACIÓN	Interrupción controlada de la síntesis de una hebra complementaria durante una replicación <i>in vitro</i> . Se utiliza para relacionar filogenéticamente aislamientos microbianos. Detección y caracterización de secuencias de ADN por su tamaño en muestras clínicas o en aislamientos.

Cuadro 28-2. Ventajas y desventajas de las técnicas moleculares

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Altamente específicas. • Altamente sensibles. • Permiten un diagnóstico rápido. • No requieren el aislamiento del agente infeccioso. 	<ul style="list-style-type: none"> • Falsos positivos y negativos. • Tecnología costosa. • No siempre estandarizadas. • Resultados no siempre reproducibles. • Resultados positivos no indican gérmenes viables.

Resumen

Las llamadas técnicas moleculares son procedimientos basados en la caracterización física de moléculas de ácidos nucleicos. Permiten llegar al diagnóstico rápido de las enfermedades infecciosas en aquellos casos donde el diagnóstico convencional no pueda ser utilizado. Asimismo, han demostrado ser de gran utilidad en el campo de la Epidemiología, ya que hacen posible el conocimiento de la probable fuente de infección, la forma de transmisión y puerta de entrada de los microorganismos involucrados en las infecciones.

Para su aplicación, el primer paso a seguir es la obtención y preparación de muestras, contemplando las condiciones de recolección, conservación y transporte. Luego se desarrolla la liberación del material genético del agente infeccioso mediante técnicas enzimáticas o mecánicas. Se continúa con la purificación del material extraído que posteriormente es sometido a técnicas como la amplificación en cadena de la polimerasa (PCR), la cual permite en forma específica y sensible detectar y aumentar la cantidad de material genético presente en una muestra.

Una variante de esta última es la *amplificación aleatoria* (RAPD) que, junto con las *restrictasas* o *enzimas de restricción*, se han convertido en herramientas epidemiológicas que hacen factible discriminar aislamientos de diversos agentes infecciosos.

Técnicas como la hibridación, secuenciación, cariotipificación y la restricción han sido empleadas con éxito por muchos investigadores en los últimos años, con el fin de llegar al diagnóstico de enfermedades infecciosas, así como también para diferenciar aislamientos de microorganismos provenientes de una fuente común, como ocurre con los brotes nosocomiales.

Preguntas de revisión

1. Defina el concepto de técnica molecular.
2. Enumere las ventajas y las desventajas de las técnicas moleculares vs. las convencionales.
3. ¿Qué pasos básicos seguiría usted para la extracción de material genético de un agente infeccioso en una muestra o aislamiento clínico?
4. ¿Qué se entiende por amplificación del DNA?
5. ¿En qué caso está indicado realizar una amplificación aleatoria?
6. ¿Qué agente intercalante se utiliza para la visualización de fragmentos de ácidos nucleicos sometidos a electroforesis?
7. ¿Cuál es el mecanismo de acción de las *restrictasas*?
8. ¿Qué técnica se emplea para la separación de cromosomas? Mencione el fundamento de ésta.
9. ¿Cómo se clasifican y en qué se diferencian las técnicas de hibridación?
10. Enumere las características que definen a un oligonucleótido empleado como sonda.
11. ¿Cuáles son las sustancias más usualmente utilizadas para la marcación de sondas?
12. Explique cuál es la utilidad del método de secuenciación de ácidos nucleicos.

BIBLIOGRAFÍA

Carnovale S, Elías Costa MR, Relloso MS. Oropharyngeal candidosis in AIDS patients: an epidemiological study using restriction analysis of *Candida albicans* total genomic DNA. *Revista Mycoses*, 1999; Vol. 42: 41-46.

Carnovale S, Elías Costa MR, Relloso S, Negroni R, Negroni M, Iovannitti C. Estudio comparativo de los genotipos de *Candida albicans* aisladas de pacientes inmunocomprometidos y portadores sanos. *Revista Argentina de Micología*, 2001;33:209-216.

Carnovale S, Lorenzo J, Kaufman S, Finkelievich J, Guelfand L. Genotypic of strains belonging to the genus *Trichosporon*. *Medical Mycology*, 2007;Vol 45:51-56.

Carnovale S. Aplicación de técnicas moleculares al estudio epidemiológico de infecciones nosocomiales por hongos levaduriformes. *Anales de la Fundación Alberto J. Roemmers*, 2007;Vol 18:65-75.

Luque J, Herráez A. *Biología Molecular e Ingeniería Genética. Conceptos, técnicas y aplicaciones en Ciencias de la Salud*. España: Ed. Harcourt, 2002; pp.117-241.

Maniatis TE, Fritsch F, Sambrook J. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989; pp. 6: 1-62, 7: 1-87.

Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover F, Tenover R. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington DC: ASM Press, 2005; pp.130-157.

Persing D, Thomas F, Smith F, Tenover C, White T. *Diagnostic Molecular Microbiology. Principles and applications*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1993; pp.3-160.

Rickwood D, Hames BD. *Gel electrophoresis of nucleic acids. A practical approach*. 2nd ed. Oxford: IRL Press, 1990; pp. 51-122.

Watson J, Gilman M, Witkowski J, Zoller M. *Recombinant DNA*. New York: Scientific American Books, 1992; pp.79-98.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

2º PARTE

BIOLOGÍA MOLECULAR EN ODONTOLOGÍA.
BIOLOGÍA MOLECULAR DE *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Jorge Antonio Yáñez Santos

Contenidos

La biología molecular y el problema de la clasificación de *S. mutans*. La caries dental y la biología molecular. Identificación de *S. mutans*. Epidemiología molecular.

Objetivos

Describir la aplicación de algunas técnicas de biología molecular en Odontología.

INTRODUCCIÓN

El estudio de la estomatología actual a la luz de las investigaciones del siglo XXI implica un cambio importante en la filosofía que contribuya a resolver muchos de los problemas de los pacientes con enfermedades dentales. Thomas indica que la estomatología actual no sólo consiste en la preparación y obturación de piezas dentales con caries, ya que "la estomatología del futuro es una ciencia interdisciplinaria en la cual pueden interactuar entre muchos otros conceptos de biología molecular craneofacial, genética, regeneración ósea, biomateriales, microbiología e inmunología". Por lo tanto, es importante incluir conocimientos básicos sobre algunas de las técnicas más importantes de la biología molecular; nos referimos a la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, PCR por sus siglas en inglés (*polymerase chain reaction*), la cual ha sido considerada por algunos autores como la contribución biotecnológica más importante de fin de milenio.

La biología molecular es muy importante para la práctica profesional del estomatólogo actual debido a que ha hecho posible el estudio de las comunidades microbianas, incluyendo a especies que no son susceptibles de ser cultivadas en el laboratorio. Otro ejemplo es la **detección molecular de microorganismos asociados a abscesos dentoalveolares**, así como el **diagnóstico temprano y específico de infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV)**, en el caso

de pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), aun antes de la aparición de anticuerpos. Otra aplicación práctica es la **detección de diversos tipos de infecciones**, incluyendo a *Mycobacterium tuberculosis* en muestras en las que la cantidad de microorganismos es muy escasa. Se considera que la técnica de PCR puede detectar en una muestra clínica el equivalente al genoma de una sola micobacteria.

La reacción en cadena de la polimerasa es, como se vio, un método enzimático capaz de copiar de forma exponencial (amplificación) un fragmento de DNA específico de un determinado microorganismo o de cualquier otro ser vivo. El resultado final de la acción de la enzima DNA polimerasa es la obtención de millones de copias del fragmento genómico problema.

Este método se desarrolló a partir de 1985 por el equipo de Kary Mullis quien recibió el premio Nobel de Química en 1993; esta técnica en muy poco tiempo se ha convertido en una herramienta de indudable utilidad para el diagnóstico microbiológico, con un sinnúmero de aplicaciones, entre las que se encuentran el **diagnóstico de enfermedades genéticas** y algunas **aplicaciones de carácter forense**. El método tiene tres etapas:

- Extracción del ácido nucleico a investigar por diferentes métodos.
- Amplificación de la secuencia genómica específica.
- Detección del fragmento amplificado.

A su vez la amplificación de la secuencia genómica específica tiene tres pasos:

1) Desnaturalización del DNA por calor (entre 93 °C a 95 °C). 2) Unión de los cebadores o iniciadores (*primers*), los cuales son dos oligonucleótidos, de secuencia de bases conocida, que se unen a cada hebra complementaria de DNA. Por lo tanto, se requiere enmarcar la secuencia a copiar, debido a que la enzima que polimeriza necesita zonas de doble hebra de DNA para iniciar el proceso. Se realiza este paso a temperaturas de 45 °C a 65 °C. 3) Polimerización. La Taq polimerasa (enzima extraída de la bacteria *Thermus aquaticus*, que es capaz de vivir a altas temperaturas) produce la replicación del molde de DNA a partir del extremo 3' de cada iniciador en las dos hebras simultáneamente. Se realiza a temperatura de 70 a 74 °C.

Después de *n* ciclos sucesivos se obtienen 2ⁿ copias de la secuencia genómica específica, aunque por arriba de un determinado número de ciclos no hay aumento del rendimiento. La detección del fragmento amplificado se realiza por electroforesis en gel de agarosa o por sondas de hibridación. La visualización de bandas se efectúa mediante la incorporación de bromuro de etidio, un compuesto que se fija al DNA y que en presencia de luz ultravioleta produce una coloración naranja brillante (fluorescencia). El único inconveniente de esta técnica es precisamente su mayor ventaja, es decir, debido a su capacidad tan grande de amplificar un genoma, deben tenerse ciertas condiciones básicas para evitar que se contamine una muestra y se obtengan falsos positivos.

La biología molecular y el problema de la clasificación de *S. mutans*

Considerado como especie, los estreptococos son un grupo muy diverso, ya que pueden variar de microorganismos comensales a microorganismos patógenos teniendo una capacidad de colonizar un amplio rango de tejidos corporales. Estos microorganismos también varían mucho en su resistencia a los antibióticos, desde los multiresistentes enterococos hasta el ligeramente resistente *Streptococcus pyogenes*. Por lo tanto, no es de sorprenderse, cuando uno revisa las investigaciones de los microorganismos patógenos en los últimos cien años que los estreptococos aparecen como uno de los microorganismos patógenos grampositivos mejor estudiados.

La cavidad oral es un medio ambiente que es cálido, húmedo y con una provisión abundante de nutrientes tanto en la forma de macromoléculas proporcionadas por el metabolismo del individuo como en la presencia de los alimentos que son

ingeridos de manera regular e irregular en forma de colaciones intermitentes a lo largo del día. Diversas especies de estreptococos se encuentran representadas entre las setecientas especies bacterianas que colonizan de manera natural la boca (véase cap.18). Algunos de estos estreptococos parecen estar presentes en la mayoría de los individuos estudiados, independientemente del país o zona geográfica.

Durante muchos años, particularmente a principios del siglo XX, la clasificación taxonómica de los estreptococos constituyó un serio problema, incluso ahora puede encontrarse en algunos libros de texto, sobre todo en aquellos que no son muy recientes, donde se agrupa a los estreptococos con términos descriptivos como "estreptococos *viridans*" que hacen referencia a una coloración verdosa sobre las placas de agar sangre también llamada hemólisis alfa. Sin embargo, en la actualidad esta denominación no puede hacerse totalmente equiparable con el término "estreptococos orales", debido a que algunos de ellos pueden ser "beta hemolíticos" (decoloración total de alrededor de las colonias sobre placas de agar sangre), mientras que no todos los estreptococos que presentan alfa hemólisis se encuentran dentro del grupo de los estreptococos orales. Por lo tanto, la clasificación actual de los estreptococos ha incluido la utilización de un enfoque integral que incluye tanto las técnicas de biotipificación (características del metabolismo bacteriano), serotipificación (la utilización de técnicas inmunológicas), así como el empleo de las recientes técnicas de derivadas de la biología molecular, como la hibridación de ácidos nucleicos y la secuenciación de RNA ribosomal. A pesar del empleo de estas técnicas, no existe razón para pensar que el proceso de clasificación taxonómica ha sido completado.

Las especies de estreptococos orales encontrados en humanos pueden agruparse en cuatro grupos: grupo *Mitis*, grupo *Mutans*, grupo *Salivarius* y grupo *Anginosus* (véanse caps. 18 y 19).

En el grupo *Mitis* se encuentran las siguientes especies bacterianas: *S. mitis*, *S. oralis*, *S. gordonii*, *S. sanguis*, *S. parasanguis*, *S. crista*, *S. infantis* y *S. peroris*, las cuales son bacterias bastante comunes en la cavidad oral; son las primeras especies involucradas en la colonización de la biopelícula dentobacteriana y han sido reportadas como una causa frecuente de endocarditis bacteriana (véase cap. 22).

Dentro del grupo *Mutans* se encuentran dos especies: *S. mutans* y *S. sobrinus*, las cuales se encuentran principalmente en la biopelícula de la placa dentobacteriana asociadas al proceso de producción de caries dental.

El grupo *Salivarius* comprende a las especies: *S. salivarius* y *S. vestibularis*, las cuales colonizan principalmente las superficies mucosas y no son patógenos.

El grupo *Anginosus* está formado por las siguientes especies bacterianas: *S. anginosus*, *S. constellatus* y *S. intermedius*, las cuales se encuentran en el surco gingival y algunas veces se les ha reportado como agentes causales de abscesos en diversos sitios corporales (Kawamura de Russell en Fischetti).

La caries dental y la biología molecular

La caries dental ha azotado a la humanidad desde los inicios de la civilización y en nuestros días constituye la enfermedad humana con mayor prevalencia en todo el mundo. A pesar de ser una enfermedad que no pone en peligro la vida y su severidad está disminuyendo en muchos países desarrollados, anualmente se gastan miles de millones de dólares en todo el mundo. Hamada y Hutton, en 1980, describieron a la caries dental como una enfermedad multifactorial que involucra la interacción de factores del hospedador (diente, saliva), la dieta, la biopelícula de placa dental (*Streptococcus mutans*) y el tiempo, como se vio.

Beighton y colaboradores, en 1991, introdujeron algunas pruebas basadas en ensayos enzimáticos para diferenciar entre las especies microbianas *S. mutans* y *S. sobrinus*.

En 1989 Caufield y Walter, estudiaron la diversidad genética dentro del DNA cromosómico de *S. mutans* usando la enzima de restricción Hae III. Ellos reportaron varios polimorfismos (genotipos) en diferentes individuos, por lo que RFLP (véase cap. 28, 1º parte) es usada para estudiar la transmisión y la adquisición de *S. mutans*, además de que sirve para observar la variabilidad de los biotipos en un período determinado dentro de una familia, madres e hijos.

En 1994, por estudios de biología molecular, se corroboró que la caries dental es una infección transmisible de persona a persona, en la cual *S. mutans* juega un papel muy importante. Ellos mencionan que es esencial conocer el desarrollo de estrategias para la prevención de la caries dental, dentro de las que están el estudio de la transmisión que puede ser vertical u horizontal por medio de la técnica de RFLP.

En 2000, usando la técnica de RFLP se publicó el análisis de los distintos genotipos de *Streptococcus mutans* que se encuentran en una población Sueca y comprobaron que los diferentes biotipos pueden persistir, así como ir cambiando a través de los años.

Renata Matos y colaboradores, en 2001, recuperaron cepas de *S. mutans* de las enfermeras y de los niños internados en un hospital infantil, analizaron las cepas aisladas utilizando la técnica de RFLP. Encontraron por este estudio que los biotipos eran similares entre las enfermeras y los niños, por lo que concluyeron que hay un modo de transmisión vertical.

Identificación de *S. mutans*

La identificación de rutina de *S. mutans* está basada en el crecimiento en varios medios de cultivo, morfología colonial, características bioquímicas y de sus ácidos nucleicos. Algunos de los estreptococos orales utilizan sustratos, como el manitol, sorbitol, rafinosa, melobiosa, arginina, esculina, inulina, lactosa.

S. mutans es distinguible de los demás estreptococos orales por su capacidad de fermentar al manitol, sorbitol principalmente; tiene la característica de producir considerables cantidades de glucanos insolubles de alto peso molecular y levanos cuando la sacarosa es utilizada como sustrato.

Recientemente, los métodos basados en ácidos nucleicos, como RFLP o técnicas de hibridación, han sido desarrollados y son ampliamente aplicadas en los campos de la investigación, en los diagnósticos médico y dental. En la investigación dental, la técnica de RFLP da buenos resultados en los ensayos de visualización de polimorfismos genómicos (genotipos) de bacterias de cavidad oral, además de ser aplicada para detectar una gran cantidad de patógenos orales, entre los que se encuentra *S. mutans* (fig. 28-12).

La habilidad de distinguir aislamientos individuales de *S. mutans* mediante la digestión del DNA cromosómico con enzimas de restricción representa una herramienta poderosa para examinar la historia natural de esta enfermedad infecciosa; más específicamente, este método permite examinar la transmisión y la adquisición de *S. mutans* dentro de una población humana y el posible descubrimiento de la relación cepa específica del desarrollo de la caries dental para una determinada población.

Epidemiología molecular

La epidemiología es el estudio de la distribución de la enfermedad y de los determinantes de su prevalencia en el hombre. La definición indica dos áreas principales: el estudio de la distribución de la enfermedad y la búsqueda de los determinantes de la distribución encontrada. La epidemiología describe la distribución de los estados de salud en términos de edad, sexo, raza, geografía, etc., podría

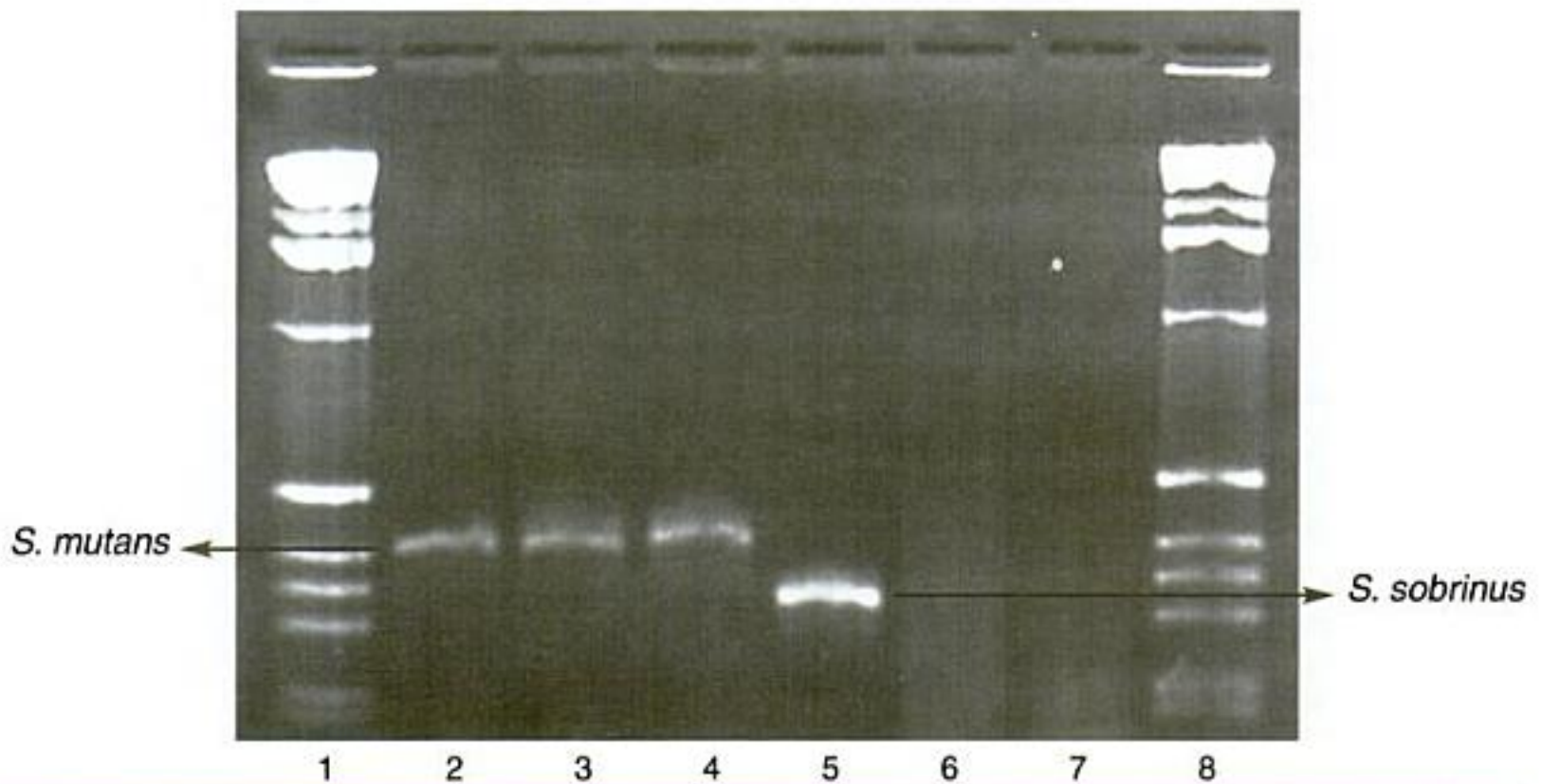


Fig. 28-12. PCR para *Streptococcus mutans* y *S. sobrinus*. Electroforesis de ácidos nucleicos en agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio (EtBr). En los carriles 1 y 8 observamos el marcador de peso molecular; en los carriles 2, 3 y 4, DNA de *S. mutans*; en carril 5 DNA de *S. sobrinus*; carriles 6 y 7, controles negativos. **Fuente:** Juárez-Luna G, Rojano-Cruz MA. 2007. Identificación de *Streptococcus mutans* y *S. sobrinus* mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en muestras clínicas de niños con y sin caries. Tesis profesional Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.

ser considerada como una extensión de la disciplina de la demografía al campo de la salud y de la enfermedad.

La parte molecular ayuda a comprender la interpretación de la distribución en términos de los posibles agentes causales.

Por lo tanto, el término de epidemiología molecular constituye “una ciencia que se enfoca a la contribución del potencial genético y de los facto-

res de riesgo del medio ambiente identificados a un nivel molecular, para la distribución de la etiología y la prevención de las enfermedades dentro de familias y a través de las poblaciones”. Este nuevo campo ha surgido de la integración de la biología molecular dentro de la investigación epidemiológica.

La investigación de la epidemiología de *S. mutans* y *S. sobrinus* ha sido dificultada por la falta



Fig. 28-13. La enseñanza de la biología molecular en algunas facultades de Estomatología de América Latina ya está empezando a ser una realidad, como sucede en algunos países desarrollados: a) Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. b) Faculté d’Odontologie, Université de Bordeaux II, France.

de pruebas simples que distingan entre estas dos especies y, lo más importante, por la ausencia de un efectivo método de clasificación que esté disponible para una discriminación fina entre cepas de una misma especie.

En los diversos estudios que muestran la biodiversidad genómica (genotipos) entre los biotipos de *S. mutans* "c", "e" y "d" de las cepas tipo, se ha encontrado la presencia de diferentes patrones de corte con las endonucleasas de restricción, lo cual

probablemente muestre más que diferencias genómicas muy importantes, variaciones significativas en relación con las técnicas empleadas. Esto puede ponerse de manifiesto con lo reportado por Caufield en 1989, Kulkarni en 1989 y Nie en 2002, donde menciona que existe variabilidad genómica entre los biotipos "c", "e", "f", "d" y "g". Aunque Caufield, en su estudio, encuentra mejor patrón de bandedo al usar las enzimas Hae III y Hind III.

Resumen

Los conocimientos científicos y tecnológicos avanzan muy rápidamente y las aplicaciones de la biología molecular en estomatología no son la excepción (fig. 28-13), por lo que el presente capítulo es actualizar al lector en las bases teóricas de una de las técnicas más usadas en biología molecular, la técnica de reacción en cadena de la polimerasa y de la importancia de la genómica en la clasificación y la identificación de bacterias bucales, en especial *S. mutans*.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué utilidad han tenido en odontología las técnicas moleculares?
2. ¿Qué técnica molecular es la que más se ha usado?
3. ¿Para qué diagnóstico serían más útiles las técnicas moleculares?

Problema 28-1

En un lapso de tres días se detectan cuatro casos de infección por cocos grampositivos en pacientes internados en la sala de cuidados intensivos de un hospital general.

Preguntas

1. ¿Cuál sería la importancia de determinar, además del género y la especie, la clonalidad de los gérmenes involucrados?
2. ¿Qué técnica molecular emplearía para diferenciar los aislamientos?

Problema 28-2

Un paciente con antecedente de trasplante renal presenta un cuadro de hepatitis. Frente a estos antecedentes epidemiológicos el médico decide solicitar estudios para investigar la presencia del virus de la hepatitis C como posible origen de la infección.

Preguntas

1. ¿Qué técnica molecular permite realizar este diagnóstico?
2. Discuta su sensibilidad y su especificidad.

Problema 28-3

El paciente A.G. de sexo masculino, argentino, residente en la provincia de Buenos Aires presenta un diagnóstico presuntivo de histoplasmosis laríngea y pulmonar. Éste se realizó teniendo en cuenta su anamnesis, el examen físico, los exámenes de laboratorio, los estudios por imágenes y los estudios microscópicos de los materiales clínicos remitidos al laboratorio de Microbiología. De los cultivos de estos materiales se recuperó por incubación a 37 °C una colonia vellosa de color blanco sin fructificación.

Pregunta

1. ¿De qué manera podría Ud. certificar el diagnóstico presuntivo?

BIBLIOGRAFÍA

- Alaluusua S, Matto J, Gronroos L, Innila S and Torkko H. Oral colonization by more than one clonal type of *Streptococcus* in children with nursing-bottle dental caries. *Archs Oral Biol*, 1996;41(2):167-173.
- Beighton D, Russell RRB, Whaley RA. A simple biochemical scheme for the differentiation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Caries Res*, 1991;25:174-178.
- Brisson-Noel A, Lecossier D, Nassif S, Gicquel B, Levy-Frebault V, Hance AJ. Rapid diagnosis of tuberculosis by amplification of mycobacterial DNA in clinical samples. *Lancet*, 1989;ii:1069-1071.
- Caufield PW, Walker TM. Genetic diversity within *Streptococcus mutans* evident from chromosomal DNA restriction fragment polymorphisms. *J Clin Microbiol*, 1989;27(2): p.272-278.
- Dental School Renaissance. UAB Synopsis, Vol. 26, N° 6, February 19, 2007.
- Dymock D, Weightman AJ, Scully C, Wade WD. Molecular analysis of microflora associated with dentoalveolar abscess. *J Clin Microbiol*, 1996;34:537-542.
- Emmanuelson IR, Thornqvist E. Genotypes of *Mutans Streptococci* tend to persist in their host for several years. *Caries Res*, 1996;34:133-139.
- Erlich HA, Gelfand D, Sninsky JJ. Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science*, 2000;252:1643-1651.
- Glick BR, Pasternak JJ. Molecular biotechnology. Principles & applications of recombinant DNA. Washington DC: American Society for Microbiology Press; pp. 55-82.
- Griscelli, Brechot C. Detection of HIV-1 in infants, and children by means of the polymerase chain reaction. *Lancet*, 1988; ii:538-541.
- Hamada S, Hutton DS. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev*, 1988;42(2):331-384.
- Harper-Owen R, Dymock D, Booth V, Weightman AJ, Wade WD. Detection of unculturable bacteria in periodontal health and disease by PCR. *J Clin Microbiol*, 1999;37:1469-1473.
- Laure F, Rouzioux C, Veber V, Jacomet C, Courgnard V, Blanche S, Burgard M, Griscelli C, Brechot C. Detection of HIV-1 in infants, and children by means of the polymerase chain reaction. *Lancet*, 1988;ii: 538-541.
- Mattos RO, Li Y, Caufield PW, Duncan M, Smith DJ. Genotype diversity of *Mutans Streptococci* in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. *J Clin Microbiol*, 2001;39(6): 2313-2316.
- Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am* 1990;262:56-65.
- Saiki RK, Geifand DH, Stoffel S, Scharaf S, Higuchi R, Horn GT, Mullis KV, Erlich HA. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a Thermostable DNA polymerase. *Science*, 1988;239:487-491.
- Yáñez A, Cedillo L. La Biología Molecular en estomatología - La reacción en cadena de la polimerasa. *Revista Oral*, 2000;1(4 y 5):56-57.

Lo ideal sería que el operador no tuviera que abandonar en ningún momento el ámbito de trabajo hasta que finalizara su tarea.

La zona donde se lava, acondiciona y esteriliza el instrumental debería estar alejada del ambiente donde se realizan las maniobras operatorias a fin de impedir la formación de aerosoles.

Las puertas tendrían que abrirse hacia afuera o ser de tipo vaivén para que no fueran tocadas con las manos contaminadas.

Las ventanas tendrían que permitir una buena iluminación, lo que prevendría la fatiga visual.

Las paredes que terminan en forma redondeada con el piso son las mejores, pues los ángulos pronunciados retienen elementos imposibles de eliminar adecuadamente.

La instalación eléctrica debe ser acorde con la potencia de los aparatos conectados a esa red. La colocación de disyuntores es más que conveniente.

Si se dispone de aparatos de aire acondicionado, debe recordarse que a partir de los filtros de dichos aparatos se han aislado muchísimos microorganismos y que, por lo tanto, debe controlarse periódicamente su estado de limpieza.

Las plantas representan una fuente importante de infección debido a que la tierra es el hábitat natural de *Clostridium tetani* y otros agentes patógenos. Sólo podrían adornar una sala de espera, pero jamás el lugar donde se encuentra la unidad terapéutica.

Tanto las paredes como el piso y el mobiliario deben ser fáciles de limpiar y resistentes a la acción de los desinfectantes de superficie. Controlar la presencia de roedores e insectos es otra premisa importante.

El buen estado de conservación de las cañerías es fundamental para que no haya reflujos y para que éstas no se tapen. Por ende, el mantenimiento edilicio es un objetivo capital.

Habría que contar con tres ambientes como mínimo; en caso de que esto no fuera posible el mobiliario y los equipos deberían distribuirse como para crear áreas.

No se debe comer, beber, fumar ni maquillarse en la zona de trabajo.

Algunos autores destacan dentro del ambiente la zona de trabajo, la zona límite de tratamiento y la zona periférica.

Plan de mantenimiento del ambiente

Es imprescindible establecer un plan de mantenimiento: a) diario, b) semanal, c) mensual y d) edilicio. El mantenimiento diario consistirá en el fregado del piso con descontaminante (véase cap.

11), en el mantenimiento semanal se incluirá la parte interna de los armarios, para el mantenimiento mensual se hará uso de alguna empresa que proceda a la desinsectización y para mantener las condiciones edilicias del ambiente se contará, además, con el auxilio del personal necesario para verificar el estado de las cañerías, la instalación eléctrica y la conservación del equipo dental.

Procedimientos en caso de accidentes

Si se produce un derrame de líquidos con material infeccioso en el piso, se colocará un papel absorbente empapado en hipoclorito, solución fenólica u otro desinfectante. Se lo dejará 15 minutos, se lo retirará y se repetirá el procedimiento y, por último, se fregará con otro papel embebido y se dejará secar al aire (véase diluciones en el capítulo 11). Estos papeles serán eliminados en la bolsa de material para incinerar.

Si se trata de una **herida** producida con un instrumento retirado de la boca de un paciente, se realizará lavado con antiséptico, se la cubrirá con un apósito embebido en yodopovidona, se lo dejará actuar y se consignarán los datos del paciente del cual provenía el instrumento; en caso necesario se realizará una consulta con un infectólogo.

FUENTES DE INFECCIÓN EN UN CONSULTORIO O CLÍNICA DENTAL

1. Aerosoles. Los aerosoles son partículas de distinto tamaño que se encuentran en el aire. Las partículas de menor tamaño se mantienen en suspensión o flotan, mientras que las de mayor tamaño se depositan en diversas superficies (pisos, muebles, paredes). Estos aerosoles provienen de la nasofaringe de las personas que están en ese ambiente o que lo comparten.
2. El profesional y las personas que integran su equipo. A partir de esta fuente la infección puede transmitirse por contacto directo o por los aerosoles.
3. Los propios pacientes por los mecanismos antes citados.
4. Instrumental y mobiliario odontológico inapropiadamente tratados.
5. Otros objetos inanimados que vehiculizan microbios.
6. Insectos vectores.
7. Paredes y techos con humedad que retienen gérmenes.

En el cuadro 29-1 se citan las enfermedades de posible transmisión en el consultorio dental.

- Nunca debe volver a usarse un tubo de anestesia que contenga restos del agente anestésico.
- El uso de algodoneritos está totalmente contraindicado.
- No hay que utilizar tambores, salvo que éstos contengan la gasa o los algodones envueltos en forma independiente en su interior.
- No deben reencapucharse las agujas, al menos con las manos.
- Si el instrumental está dispuesto en cajas, siempre hay que tener una pinza estéril para retirarlo de ellas.
- **Caja abierta es igual a caja contaminada.** Por lo tanto, lo que no se haya usado también deberá ser sometido a un nuevo ciclo de esterilización.

La prescripción de antimicrobianos al paciente deberá limitarse a casos precisos y con la indicación del fármaco adecuado para impedir mecanismos de resistencia o favorecer mutantes de microorganismos luego más difíciles de erradicar. Hay que evitar la atención de los enfermos que están cursando un cuadro agudo (por ej., gripe). El profesional y su equipo deberían someterse a exámenes médicos periódicos (cada dos o tres años).

MEDIDAS QUE DEBEN TOMARSE DESPUÉS DE LA CONSULTA

Tratamiento del instrumental

1. Descontaminarlo en el lugar donde se lo usó.
2. Lavarlo.
3. Acondicionarlo; en algunos casos esto incluye lubricarlo, proteger las puntas o los filos y, finalmente, embalarlo en forma individual o en cajas; hay que dejar espacio suficiente para la circulación de aire o vapor.
4. Esterilizarlo (véase cap. 13).
5. Almacenarlo en un lugar limpio y seco (véase cap. 31-7).

Tratamiento de los residuos

1. Hay que descontaminar los elementos descartables antes de eliminarlos, salvo que se cuente con un horno patológico, en cuyo caso se los colocará en una bolsa roja convenientemente identificada.
2. Los elementos punzantes o cortantes deben estar dentro de un contenedor rígido. En otros países ya existen normas para eliminar residuos tóxicos, tales como restos de amalgama, restos de líquidos reveladores y hasta ciertos desinfectantes.

3. En la actualidad hay compactadores para consultorio que ocupan poco espacio y son muy efectivos. Estos compactadores no sólo reducen el volumen del residuo, sino que además éstos son sometidos a la acción del calor. Ya rige en ciertas zonas de nuestro país las normas para recolección de residuos patogénicos.

Tratamiento de la vestimenta

Las prendas profesionales nunca deben lavarse junto con otra ropa.

1. Descontaminar.
2. Lavar como de costumbre. Si la vestimenta debe trasladarse desde la clínica hasta otro domicilio, se la colocará dentro de una bolsa de pliofilm que se descartará dentro de otra.

Limpieza de los ambientes

La zona de trabajo, la zona límite de tratamiento y la zona periférica deben ser tratadas por igual, porque los microorganismos son vehiculizados por el aire, por objetos o por el personal. Por consiguiente, estas zonas serán fregadas con un desinfectante y se dejarán secar al aire para favorecer su permanencia.

Desinfectantes para impresiones y aparatos de prótesis u ortodoncia

- Hipoclorito de sodio al 0,5% (1:10, durante 15 minutos para alginatos).
- Yodopovidona al 2,5% durante 15 minutos para aparatos de prótesis y de ortodoncia.

Para otros tipos de impresiones aún no hay datos suficientes; los compuestos de modelar que no requieren humedad y que no se alteran con el tiempo podrían colocarse en cajas con pastillas de formalina durante 12 horas.

Otra opción es hacer el vaciado y proceder a la descontaminación de los modelos con hipoclorito de sodio al 0,5% o con las pastillas de formalina.

La preocupación por evitar infecciones cruzadas ha conducido a la fabricación de materiales de impresión con antisépticos incorporados, como se citó antes.

Es imprescindible tener conocimientos sólidos y estar actualizado, pues sólo así podrá discernirse entre todo lo que se ofrece en el comercio en cuanto a antisépticos, desinfectantes y diversos dispositivos.

VACUNAS

Además de las vacunas obligatorias, tanto el profesional como los integrantes de su equipo deberán estar protegidos con la vacuna contra la hepatitis B (ley N° 24.151, véase cap. 30) y tener al día la anti-tetánica. Los profesionales, especialmente los que atienden pacientes geriátricos o inmunosuprimidos,

deberán recibir todos los años la vacuna antigripal en la época otoñal.

En caso de accidente, si es necesario, deberá inyectarse la inmunización pasiva contra el HBV, sólo entre las 24 y las 48 horas posteriores al accidente (véase cap. 30).

Es aconsejable asegurarse de que los pacientes que van a ser sometidos a intervenciones quirúrgicas tengan la vacunación antitetánica al día.

Resumen

Las medidas de bioseguridad constituyen una cadena en la que no puede suprimirse ningún eslabón. La cadena comienza con el conocimiento de lo que quiere evitarse y sigue con una permanente actualización.

El profesional debe establecer técnicas de protección para él y su equipo.

Hay que mantener un escrupuloso cuidado del ambiente mediante medidas diarias, semanales y mensuales.

En el acto operatorio propiamente dicho deben respetarse premisas universales.

Es prioritario el tratamiento adecuado del instrumental.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué fuentes de infección puede haber en un consultorio dental?
2. ¿Qué enfermedades pueden transmitirse en ese ambiente?
3. ¿Qué cuidados deben implementarse en el ambiente de trabajo?
4. ¿Con qué barreras deben protegerse el profesional y su equipo?
5. ¿Qué etapas deben seguirse antes de la atención del paciente?
6. ¿Qué pasos puede destacar durante la consulta?
7. ¿Qué debe hacerse inmediatamente después de finalizar con la atención del enfermo?
8. ¿Cómo debe procederse en caso de accidentes?
9. ¿Qué vacunas debería tener actualizadas el equipo de salud?

BIBLIOGRAFÍA

Böbmann K, Heinenberg BJ. Medidas higiénicas en la clínica dental. Barcelona: Doyma, 1992.

CDC. Guidelines for prevention of transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis B virus to healthcare and public-safety workers. MMWR, 1989; (38) S-6.

Diccionario enciclopédico ilustrado de medicina Dorland, 1ª ed. México: Interamericana-McGraw-Hill, 1989.

Facultad de Odontología. Universidad de Buenos Aires. Normas de Bioseguridad 1991-1992.

Ferraina P y col. Programa Nacional de Control de Infecciones en Cirugía. Normas para el control de infecciones en el quirófano relacionadas con sangre y secreciones (Hepatitis B, No A No B, SIDA y otros). Normas para la preparación y el mantenimiento de un quirófano seguro. Revista de

Infectología y Microbiología Clínica, 1989; 1(3) 2-7.

Gestal Otero JJ. Riesgos del trabajo personal sanitario. 1ª ed. Madrid, España: Editorial Interamericana-McGraw-Hill, 1989.

Instituto Nacional de Epidemiología. Sociedad Argentina de Arquitectura e Ingeniería Hospitalaria. Asociación de Enfermeras en Control de Infecciones. Asociación Argentina de Instrumentadoras Quirúrgicas. Recomendaciones para la prevención de infecciones del sitio quirúrgico. Infectología & Microbiología Clínica, 1997; 9(1):7-25.

Miller C. Sterilization and disinfection: What every dentist needs to know. JADA, 1992; 123:48-87.

Rosa A, Nasti CA, Nasti ML. Eslabón en la cadena de asepsia. Rev AOA, 1994; 82(2):205-7.

Samaranayake CP, Scheutz F, Cottone JA. Profilaxis infecciosa en Odontología. Barcelona: Doyma, 1993.

CLASIFICACIÓN DE LAS VACUNAS

Los inmunógenos o vacunas pueden ser clasificados desde muy diversos puntos de vista; uno de ellos responde al **tipo de agente infeccioso** a partir del cual se obtuvo el inmunógeno, y entonces se dice que hay vacunas preparadas a partir de bacterias, virus, rickettsias o micoplasmas y vacunas preparadas con toxoides (toxina que ha perdido su capacidad toxica pero no su antigenicidad). Hasta el momento no ha sido posible lograr inmunógenos contra enfermedades causadas por hongos, clamidias, protozoos y helmintos. No obstante, se han hecho muchos ensayos para preparar una vacuna antipalúdica.

Según el **método de obtención**, puede haber vacunas de gérmenes vivos, atenuados, emparentados, o bien, inactivados o muertos. Las vacunas también pueden prepararse con toda la célula (en el caso de las vacunas bacterianas) o con alguna de sus estructuras; estas últimas a veces se denominan subcelulares, como por ejemplo la vacuna antineumocócica.

En general, los componentes polisacáridicos de las estructuras externas bacterianas no suelen estimular una buena respuesta de anticuerpos, como se logra con las proteínas unidas a virus.

Las vacunas que se preparan sobre la base de células enteras son más efectivas contra los microorganismos que deben su poder patógeno a la presencia de endotoxinas. En los últimos años se han obtenido inmunógenos gracias a procedimientos de biología molecular, vacunas sintéticas, vacunas recombinantes. Es así que hay vacunas de subunidades logradas por técnicas de ingeniería genética, conocidas como **procedimientos especiales**. Existen algunas vacunas, como las **antiidiotípicas**, que se preparan a partir de un anticuerpo contra un determinado antígeno, que se le inyecta a un animal; de éste se obtiene un segundo anticuerpo, que vuelve a inyectarse en otro animal, para extraer un tercer anticuerpo que va a estar destinado a inmunizar contra el antígeno específico primario.

Las vacunas también pueden ser clasificadas de acuerdo con los **antígenos que las componen** y así podemos decir que hay vacunas **monovalentes** (preparadas contra un solo antígeno), **polivalentes** (contienen distintas variantes de un antígeno, como por ejemplo la vacuna antigripal), **combinadas** (contienen antígenos de diferentes agentes infecciosos, como por ejemplo la triple viral) y **asociadas o conjugadas** (están preparadas con antígenos celulares y productos microbianos [toxinas]).

Más recientemente se han preparado vacunas compuestas por DNA.

MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE VACUNAS O INMUNÓGENOS

Los métodos para obtener la **atenuación** de los microorganismos o agentes infectantes incluyen diversas técnicas; puede ser que la atenuación se logre con una serie de pasajes en medios de cultivo o por inoculaciones en animales de laboratorio.

La **inactivación o muerte** del microorganismo se consigue con métodos que recurren al calentamiento o por la acción de desinfectantes; por estos mismos procedimientos puede transformarse una toxina en un toxoide.

Las inactivadas tienen un costo más elevado, requieren ser administradas por inyección, en dosis múltiples y, en general, no otorgan respuesta de tipo celular; además la duración de la inmunidad es menor que con las atenuadas.

Es posible alcanzar una mayor inmunogenicidad (respuesta de anticuerpos) si a la vacuna se le agregan sustancias conocidas como adyuvantes.

Adyuvante

Los adyuvantes o coadyuvantes son agentes o sustancias que **permiten una liberación lenta del antígeno**, con lo que el efecto es mayor. En general, se trata de sustancias minerales transportadoras como el hidróxido o el sulfato de aluminio y ciertos lípidos; éstos transforman los antígenos solubles en antígenos particulados o corpusculares.

Composición de la vacuna

Las vacunas están compuestas por:

1. Líquido de suspensión, que puede ser agua, solución fisiológica u otros medios biológicos.
2. El antígeno o inmunógeno propiamente dicho previamente concentrado, purificado y titulado.
3. Conservadores y estabilizadores; éstos pueden ser responsables de respuestas de hipersensibilidad.
4. Adyuvantes.

En la actualidad se está tratando de incorporar toxina colérica atenuada y linfotoxina de *E. coli*, para vacunas intranasales u orales, con el fin de promover una respuesta de IgA secretoria.

ALCANCES DE LA INMUNIZACIÓN

Si bien con las vacunas que se aplican en forma reiterada es posible alcanzar un efecto más duradero, algunas vacunas que se administran en una sola dosis generan inmunidad permanente.

La duración de la **inmunidad debería ser de por vida, pero es irregular y depende de diversas condiciones, como por ejemplo del tipo de inmunógeno y también de la persona que recibió la vacuna.** La respuesta depende del estado fisicoquímico del inmunógeno, de la forma de administrarlo (es más efectivo si reproduce la puerta de entrada de la enfermedad), del destino metabólico del antígeno, de las características genéticas del receptor y de factores individuales del hospedador, como por ejemplo la edad.

La respuesta primaria puede ser evidente después de un período de latencia de una a dos semanas, momento en el cual pueden detectarse anticuerpos en el suero, aunque esto no siempre se cumple. Algunas vacunas pueden despertar una respuesta de tipo celular. Para la difteria podría comprobarse la producción de anticuerpos con la prueba de Schick (véase cap. 23-6) y para los que han recibido la vacuna BCG, por la conversión de la prueba PPD (véase cap. 23-4).

Otro alcance de la inmunización es que disminuye el número de personas susceptibles de enfermarse, lo que conduce a la interrupción de la cadena de propagación.

Es un tipo de **inmunización masiva.**

VÍAS DE ADMINISTRACIÓN DE LAS VACUNAS

Las vacunas pueden ser administradas por vía oral, por aerosoles, por vía nasal, por vía sublingual, por vía conjuntival, por vía intradérmica, por vía subcutánea y por vía intramuscular.

CONDICIONES DE UNA VACUNA IDEAL

Una vacuna ideal debe reunir los siguientes requisitos:

1. Tiene que brindar una inmunidad efectiva y específica, y para ello debe utilizar la misma vía de presentación del antígeno que emplea el patógeno en la infección natural.
2. Debe conferir inmunidad de por vida.
3. Debe ser inocua, es decir, carente de efectos colaterales.
4. Debe haberse mantenido estable. En ocasiones la falta de actividad de una vacuna se debe a que se ha interrumpido la cadena de frío o la temperatura adecuada para una conservación sin alteraciones.
5. Debe ser barata para estar al alcance de toda la población.

CONTRAINDICACIONES PARA VACUNAR

Hay ciertas contraindicaciones para inmunizar a una persona, a saber:

- a) Que el sujeto esté padeciendo alguna enfermedad aguda.
- b) Que se trate de una persona inmunosuprimida por drogas, radiaciones, enfermedades oncohematológicas o por la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). En estos enfermos se debe observar especial precaución con las vacunas de gérmenes vivos.
- c) Que se trate de una embarazada; durante el embarazo sólo deben administrarse las vacunas indicadas para ese período.
- d) Que la persona haya presentado reacciones de hipersensibilidad previa a la misma vacuna.
- e) No deben darse vacunas a gérmenes vivos si la persona está bajo tratamiento antibiótico.

COMPLICACIONES DE LA VACUNACIÓN

Si bien las vacunas en general están exentas de riesgo, en ocasiones pueden presentarse complicaciones menores tanto de índole local como general. Las primeras se refieren a la inflamación que suele aparecer en el lugar de la punción; además, y sobre todo en el caso de la vacuna BCG, puede producirse una linfadenitis; las segundas se vinculan con la hipertermia que en algunas personas aparece al día siguiente. Hay casos muy aislados de hipersensibilidad.

TIPOS DE VACUNAS

Desde el punto de vista sanitario, puede decirse que hay **vacunas de aplicación obligatoria y vacunas recomendadas o para circunstancias especiales.**

Las **vacunas obligatorias** para los seres humanos responden a un esquema que en su mayor parte sigue reglas uniformes para todo el mundo. No obstante, existen pequeñas variaciones entre los países industrializados y los que están agrupados en el tercer mundo (véase más adelante cuadro 30-1).

Las **vacunas recomendadas** no son obligatorias y son las que se indican en casos especiales. Entre estos casos se encuentran los de las personas que trabajan en distintas áreas de riesgo, como por ejemplo los trabajadores de la salud, los veterinarios, los empleados de los mataderos u otras perso-

una mayor exposición a *C. tetanii*, como las tareas que realizan los trabajadores rurales, todos los individuos deberían tener esta vacuna actualizada, en especial antes de una cirugía o durante el embarazo. En este último caso la aplicación de la vacuna no sólo protege a la embarazada, sino que además previene la aparición del tétanos neonatal a través de la transferencia de anticuerpos al recién nacido.

La vacuna antitetánica, constituida por toxoide tetánico, se administra junto con la antidiftérica (doble para adultos dT) a fin de mantener la respuesta inmune adecuada para ambas enfermedades.

Cabe destacar que aun en los países desarrollados el nivel de cobertura antitetánica de los adultos es bajo (no supera el 30%) y la mayor parte de los casos de enfermedad se observan en personas mayores de 60 años.

Con respecto a la difteria hay que recordar que esta enfermedad no ha sido erradicada, objetivo que difícilmente se cumpla; por esta razón, es necesario mantener una inmunidad adecuada a lo largo de toda la vida, porque pueden presentarse casos a cualquier edad.

En 2002, se registraron cincuenta casos en departamentos de Paraguay, limítrofes con la Argentina. En 2006, se estimaron veintisiete casos, algunos confirmados y con un deceso.

Esta vacuna, con los dos inmunógenos, es muy efectiva, segura (con pocos efectos adversos) y de bajo costo, se inyecta por vía intramuscular.

Aunque existe vacuna antitetánica sola, es conveniente, en especial en adultos, indicar la dT.

Vacuna contra la hepatitis B

Se han obtenido diversos preparados para evitar esta enfermedad. Uno de ellos se basa en una vacuna de partículas antigénicas inactivadas obtenidas del plasma de portadores que se administra por vía intramuscular en tres dosis.

La vacuna tiene eficacia del 90 al 95% para prevenir la infección en niños y adultos. Se requieren tres dosis para inducir una respuesta de anticuerpos protectores suficiente (anti HBsAg ≥ 10 mUI/mL).

En ciertos individuos se observa una menor respuesta a la vacuna, como en los obesos, los fumadores, los individuos mayores de 40 años, los pacientes sometidos a hemodiálisis y las personas inmunocomprometidas.

Para evitar los riesgos que puede suponer la obtención de partículas virales de plasma se introdujeron técnicas recombinantes que son más seguras.

La vacuna antihepatitis B, contiene HBsAg (226AA producto del gen S) con hidróxido o fos-

fato de aluminio. Otorga el 95% de inmunogenicidad en niños y adolescentes.

En los Estados Unidos esta vacuna es obligatoria para los niños; en nuestro país está ahora incorporada al calendario nacional y además indicada para los trabajadores de la salud, los hemodializados, los pacientes con insuficiencia renal crónica, los individuos inmunocomprometidos, los recién nacidos de madres Au (+) (véase cap. 24), los drogadictos, los homosexuales, las personas que viajan a países con áreas endémicas, los adolescentes y los contextos domésticos de las personas con hepatitis B o de portadores del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg).

La vacuna se administra por vía intramuscular en el deltoides (en lactantes y recién nacidos en la cara anterolateral del muslo) en tres dosis (0, 1 y 6 meses). La dosis varía según la edad, el estado inmunario y el laboratorio productor de la vacuna, pero en general en recién nacidos y lactantes es la mitad de la dosis habitual para adultos y en las personas inmunocomprometidas el doble de dicha dosis.

Esta vacuna es bien tolerada (sólo 1-6% de efectos adversos locales) y puede ser administrada junto con otras vacunas.

Vacuna antipoliomielítica de Salk

Esta vacuna, que fue la primera que se preparó para combatir esta enfermedad, se elabora con poliovirus 1-2 y 3 inactivados con formalina y se utiliza la vía subcutánea.

La vacuna antipoliomielítica de Salk está indicada en personas con déficit de la inmunidad, como los infectados por el virus HIV o en contactos de pacientes inmunocomprometidos, pues si en estos casos el virus de la poliomielitis se administra por vía oral, puede transmitirse o generar enfermedad en las personas inmunocomprometidas. Esta vacuna también se recomienda en el adulto no vacunado.

Vacuna anipoliomielítica oral o Sabin

Contiene cepas vivas atenuadas de poliovirus tipos I, II y III. Se administra en cuatro dosis (ver cuadro 30-1) con un refuerzo a los seis años. Con sólo dos gotas se logra una eficacia del 98% y confiere inmunidad a lo largo de 15 años.

Vacuna contra la hepatitis A

Esta vacuna se prepara con virus inactivados con formalina, adsorbidos con hidróxido de aluminio y envueltos en envolturas lipoproteicas (virosomos).

La eficacia de la vacuna es superior al 95% y sus indicaciones varían de acuerdo con la preva-

Vacuna antiurliana

La fiebre urliana, producida por un *Paramyxoviridae*, ocasiona inflamación no supurativa de las glándulas salivares; cuando afecta la parótida, se la conoce como parotiditis. Esta enfermedad puede complicarse con meningoencefalitis, pancreatitis, orquiepididimitis y otras afecciones.

El inmunógeno para esta afección está constituido por virus atenuados con capacidad de reproducirse en el organismo (cuadro 30-1).

Vacuna antirrubéolica

Contiene virus atenuados de la cepa RA 27/3. Se atenúa por pasajes reiterados en cultivos celulares.

Genera una protección de algo más de 90%.

No está aconsejada para personas con alguna inmunodeficiencia (cuadro 30-1).

Vacuna contra el cólera

Esta vacuna, que no confiere una protección total debido a la variedad de agentes capaces de producir la enfermedad, contiene una suspensión inactivada con fenol de varias cepas de *V. cholerae*. En la actualidad se dispone de una vacuna de administración oral (1 dosis) más efectiva que la que se suministra por vía parenteral.

Vacuna contra la fiebre hemorrágica argentina

Aunque su administración todavía no es obligatoria, debería serlo para las personas que viven o trabajan en zonas endémicas. Esta vacuna parece ser exitosa. Está preparada con cepas virales atenuadas por clonación.

Vacuna antirrábica

Esta vacuna, que fue descubierta por Pasteur, en la actualidad se prepara con células diploides y está indicada como profilaxis preexposición en aquellas personas que por algún motivo están expuestas a un mayor riesgo de contraer la enfermedad, como los veterinarios o los individuos que viajan a zonas endémicas.

En el caso de las personas no inmunizadas que son mordidas por un perro no vacunado o que no puede ser controlado por un veterinario durante 10 días después de haber mordido a la persona primero se aconseja la limpieza local de la herida, la administración de gammaglobulina antirrábica (la mitad de la dosis en la zona de la mordedura y la otra

mitad por vía intramuscular en un glúteo) y la vacunación antirrábica, que consiste en cinco dosis, la primera en el momento de la consulta inicial y las siguientes a los 3, 7, 14 y 28 días de la primera dosis.

Vacuna contra el carbunco

Ésta es una vacuna de uso veterinario, ya que se da a animales, pero está aconsejada para personas con actividad laboral de riesgo, como veterinarios, matarifes o curtidores; se la prepara con una cepa avirulenta de *B. anthracis*.

Vacuna antipalúdica

Se han preparado distintos tipos de vacunas para prevenir esta parasitosis, pero todavía no es posible estar seguros de sus resultados. Algunos preparados tienden a proteger al eritrocito y otros actúan sobre el ciclo del parásito.

Vacuna contra el virus varicela-zoster

Esta vacuna que contiene la cepa OKA del virus varicela-zoster atenuada brinda una protección del 70 al 90% contra la infección y, si ésta se produce a pesar de la vacuna, sólo el 5% de los casos presentará formas severas, lo que significa que alcanza un 95% de protección contra las formas severas de la enfermedad.

La vacunación contra el virus varicela-zoster está indicada en niños sanos mayores de un año que no hayan tenido varicela y también en adultos que tengan contacto con **personas expuestas al riesgo de experimentar complicaciones serias de la varicela (trabajadores de la salud, docentes de escuelas y personas que conviven con individuos inmunocomprometidos), mujeres no embarazadas en edad fértil o cualquier persona con alto riesgo de exposición a este virus**. Antes de vacunar a un adulto se descartarán los antecedentes de enfermedad y en caso de duda se determinará la presencia de anticuerpos.

Esta vacuna se inyecta por vía subcutánea en una dosis en niños menores de 12 años y en dos dosis (0 y 1 a 2 meses) en los mayores de esa edad. Puede aplicarse en forma conjunta con otras vacunas, como la triple viral. No debe indicarse durante el embarazo ni en hospedadores inmunocomprometidos. En un 20 a un 30% de los casos produce efectos locales no deseados y en un 5 a un 10% provoca un rash variceliforme leve.

Esta vacuna ya está disponible en los Estados Unidos y en nuestro país.

Vacuna contra el HIV

Como es de público conocimiento, estas vacunas se encuentran en fase experimental.

Otras vacunas

Como se mencionó, se están preparando vacunas con DNA y también con anticuerpos monoclonales, útiles para combatir diversos patógenos y enfermedades.

Existen además vacunas contra:

- La **fiebre tifoidea o antitífica**; hay dos tipos de preparados; uno de ellos, elaborado con una cepa atenuada de *S. typhi*, se administra por vía oral y requiere un esquema de cuatro dosis a lo largo de 7 días con una eficacia similar a la del preparado aplicado por vía parenteral. La vacuna de administración parenteral contiene antígenos polisacáridos de la cápsula o de la superficie celular de *S. typhi*, se da en una dosis por vía intramuscular y genera una tasa de seroconversión superior al 95% con pocos efectos adversos; existe otro preparado también utilizado por vía parenteral que es obtenido a partir de bacilos inactivados.
- La **fiebre amarilla**; existe una vacuna preparada con virus vivos atenuados que está indicada para las personas que viajan a áreas endémicas; se requiere una sola dosis. Pero se aconseja actualizarla cada 10 años.
- La **encefalitis japonesa**; esta vacuna contiene virus totales inactivados y se aconseja para las personas que viajan a ciertas áreas de Asia.

También existen vacunas contra la **fiebre Q** y otras que no se citan en esta obra.

Sin embargo, hasta el momento no hay vacunas para combatir hongos, ni la mayoría de los protozoarios, helmintos parásitos humanos y clamidias.

Hay expectativas para que las vacunas no sólo se utilicen para prevenir enfermedades infecciosas, sino también sean de **utilidad para combatir adicciones, la enfermedad de Alzheimer y ciertos tipos de cáncer**. En el melanoma parece haber un futuro cercano para alcanzar ese objetivo.

ETAPAS EN LA PREPARACIÓN DE LAS VACUNAS

Cuando una vacuna va a salir al mercado, debe ser sometida a una serie de controles. Estos controles incluyen distintas fases.

La primera fase está destinada a evaluar por medio de **pruebas clínicas la toxicidad y la inmunogenicidad de la vacuna en animales de**

laboratorio. En una segunda fase se provocan **infecciones artificiales en esos animales** para determinar el efecto protector de la vacuna y recién entonces se pasa a la tercera etapa, en la que las investigaciones se efectúan sobre una **población voluntaria** en condiciones controladas.

Por último, se realizan **estudios epidemiológicos** para evaluar la efectividad de las vacunas, cuando éstas se administran en forma masiva.

A pesar de todas estas precauciones, el efecto protector de una vacuna puede fallar no sólo por factores individuales del hospedador, sino también por causas como las que se enuncian a continuación.

CAUSAS DE FALLAS EN LA VACUNACIÓN

- a) Temperatura de almacenamiento inadecuada.
- b) Interrupción de la cadena de frío.
- c) Utilización de instrumental inadecuado para su administración.
- d) Errores en la vía de introducción del inmunógeno.
- e) Utilización de vacunas vencidas.

AUTOVACUNAS

Hace unos años era común que se prepararan autovacunas a partir de materiales obtenidos de los propios enfermos, como por ejemplo a partir de muestras de fosas nasales u otros especímenes; las autovacunas también se utilizaban con fines terapéuticos para lograr la desensibilización en sujetos hipersensibles a determinado alérgeno con el cual se preparaba el inmunógeno. En la actualidad estas prácticas están cayendo en desuso debido a la dificultad para titular o dosificar adecuadamente el antígeno.

INMUNIZACIÓN PASIVA ARTIFICIAL

Es posible obtener protección contra ciertas enfermedades por el **traspaso de anticuerpos previamente generados en otro hospedador**; de hecho esto ocurre en el feto, que recibe la IgG de la madre, o también en el lactante, que recibe IgA a través de la leche materna.

Para algunas enfermedades es posible conferir defensas en forma rápida por medio de la administración de sueros que contengan anticuerpos específicos. Este procedimiento, que se conoce como **sueroterapia**, puede realizarse a partir de sueros de la misma especie o sueros humanos, en cuyo caso se dice que se trata de **sueros homólogos**.

Estos anticuerpos homólogos pueden tener una supervivencia de alrededor de 3 a 6 meses en el nuevo hospedador.

También puede proporcionarse cobertura con anticuerpos elaborados por otra especie animal, como ocurre con los sueros equinos (**sueros heterólogos**). Se utiliza el caballo, porque es un animal de gran tamaño, lo que permite obtener una buena cantidad de suero para alcanzar el nivel de anticuerpos deseado. En el suero equino las proteínas deben ser convenientemente tratadas para que no produzcan reacciones adversas en el ser humano.

Los anticuerpos de sueros heterólogos sólo tienen una duración de pocas semanas.

Ejemplos de inmunización pasiva son el suero antitóxico contra la difteria, el botulismo y el tétanos.

También se utiliza gammaglobulina humana antitarampionosa.

Hay inmunoglobulinas específicas contra la hepatitis A y la hepatitis B. Actualmente existen anticuerpos monoclonales para tratar diversas enfermedades.

En general, puede decirse que la inmunización pasiva es útil para:

- a) Prevenir una enfermedad.
- b) Mejorar los síntomas de una enfermedad.
- c) Proteger a los individuos inmunosuprimidos.
- d) Contrarrestar toxinas.

Entre la inmunización activa y pasiva hay diferencias que se mencionan en el cuadro 30-2.

Cuadro 30-2. Diferencias entre la inmunización activa y pasiva

	<i>Inmunización activa</i>	<i>Inmunización pasiva</i>
Debida a	Inmunógeno	Anticuerpos preformados
Producción de anticuerpos	En el mismo individuo	En otro hospedador
Nivel de anticuerpos	Tardan en aparecer pero se mantienen	Están instantáneamente pero decrecen
Respuesta inmunológica	Con memoria	Sin memoria
Tiempo de duración	Meses o años	Limitado a semanas
Finalidad	Profiláctica	Terapéutica
Objetivo	Proteger al individuo y a la comunidad	Proteger sólo al individuo

Resumen

Una vacuna (o inmunógeno o agente inmunizante) está constituida por un microorganismo o sus productos tratados de tal forma que al entrar en un hospedador, le confieran inmunidad activa específica.

Las vacunas pueden ser clasificadas desde puntos de vista muy distintos o según diferentes criterios. Los métodos de obtención de vacunas incluyen procedimientos físicos (calor o filtración), químicos (tratamientos con sustancias diversas), biológicos (vacunas antiidiotípicas) o de ingeniería genética.

Los adyuvantes son sustancias que retardan la liberación del antígeno y así aumentan el efecto de éste.

Una vacuna en general está compuesta por el líquido de suspensión, el inmunógeno propiamente dicho, conservadores o estabilizadores y adyuvantes.

El efecto o alcance de la inmunización depende tanto de factores del inmunógeno como de factores del hospedador. Existen formas de evaluar este efecto.

Las vías de administración utilizadas con mayor frecuencia son la subcutánea, la intramuscular y la intradérmica, aunque las vacunas también se administran como aerosoles nasales, por vía oral, por vía sublingual y por vía conjuntival.

Hay condiciones ideales que debería reunir una vacuna.

En algunos casos las contraindicaciones para vacunar están sujetas a estados patológicos o fisiológicos (embarazo) del individuo.

NORMAS DE TRABAJO E INSTRUMENTAL BÁSICO DEL
LABORATORIO MICROBIOLÓGICO*Susana Molgatini y María del Carmen Manto*

Contenidos

Normas de seguridad e higiene. Ambiente de trabajo. Protección personal. Trabajo propiamente dicho. Instrumental y equipos de uso básico en el laboratorio microbiológico. Tubos. Pipetas. Frascos. Varios. Otros elementos. Equipos.

Objetivos

- Conocer las normas de trabajo en el laboratorio microbiológico.
- Relacionar estas normas con la práctica en el consultorio odontológico.
- Describir las características y las aplicaciones de los instrumentos y los equipos utilizados en el laboratorio.

INTRODUCCIÓN

El trabajo en el laboratorio debe realizarse con una buena técnica aséptica y, por lo tanto, requiere un ambiente **limpio y ordenado**. Cuando manejamos cualquier tipo de muestra biológica, debemos evitar que los microorganismos ajenos a nuestros cultivos y presentes en el ambiente las contaminen o que los gérmenes que se encuentran en ella se propaguen al área de trabajo. Por estos motivos, la primera norma a tener en cuenta es que debe trabajarse en **condiciones de asepsia**, lo que puede lograrse si las tareas se realizan en campanas de seguridad biológica o en la proximidad de la llama de un mechero.

La aplicación de estos procedimientos en el ámbito del consultorio y en la práctica odontológica propiamente dicha contribuyen a prevenir la infección cruzada, debido a que la cavidad bucal constituye un ecosistema complejo, con gran cantidad y variedad de microorganismos, y es la principal fuente de infección en la consulta odontológica.

En síntesis, debemos:

- Limitar la presencia de microorganismos a sus recipientes (medios de cultivo) o a su hábitat

(cavidad bucal) para evitar el riesgo de contaminación.

- Impedir que los microorganismos del ambiente contaminen nuestras muestras.
- Respetar las condiciones de asepsia en el trabajo del laboratorio microbiológico.
- Conocer los equipos y el instrumental utilizados para llevar a cabo estudios elementales.

NORMAS DE SEGURIDAD E HIGIENE

El trabajo en el laboratorio de microbiología, cualquiera que sea su especialidad, implica riesgos generales y específicos para cada tipo de actividad, que deben conocerse a fondo para poder ser evitados.

Es evidente que los riesgos de infección no son los mismos en todos los laboratorios, sino que depende del tipo de trabajo que se realice en cada uno de ellos, lo que está condicionado por la patogenicidad de los microorganismos, la vía de transmisión, el potencial de difusión, etcétera. Por lo tanto, las precauciones a adoptar van a ser también distintas y tanto más estrictas cuanto más peligrosos sean los gérmenes que se manipulen.

En general, se siguen las normas establecidas por los CDC (*Centers for Disease Control and*

Prevention: Centros de Control de Enfermedades) de Atlanta (USA) para la implementación de **normas de seguridad e higiene en el trabajo** destinadas a evitar el riesgo de infección del personal que se desempeña en el laboratorio, así como su extensión a la comunidad.

Existen diferentes grupos (I a IV de menor a mayor riesgo) establecidos según los microorganismos con los que se trabaje, los equipos de seguridad y la estructura del laboratorio.

El grupo de riesgo I es válido para laboratorios de enseñanza básica, en los que se trabaja con microorganismos conocidos o patógenos oportunistas. En este nivel deben considerarse las siguientes medidas preventivas, que deben estar dirigidas a:

- A. Ambiente de trabajo.
- B. Protección personal.
- C. Trabajo propiamente dicho.

A. Ambiente de trabajo

- En el ambiente de trabajo debe haber una adecuada señalización para la prevención de riesgos y accidentes.
- Las puertas del laboratorio permanecerán cerradas mientras se trabaje y debe limitarse el ingreso de personas ajenas al lugar.
- El laboratorio debe estar siempre limpio y ordenado; todos los elementos estarán debidamente identificados y se evitará la presencia de objetos innecesarios que favorezcan la retención de polvo y microorganismos.
- Las mesadas deben desinfectarse al comenzar y al finalizar el trabajo o cada vez que sea necesario; por ejemplo, derrame de productos contaminados.
- No se aconseja la presencia de plantas naturales ni artificiales.

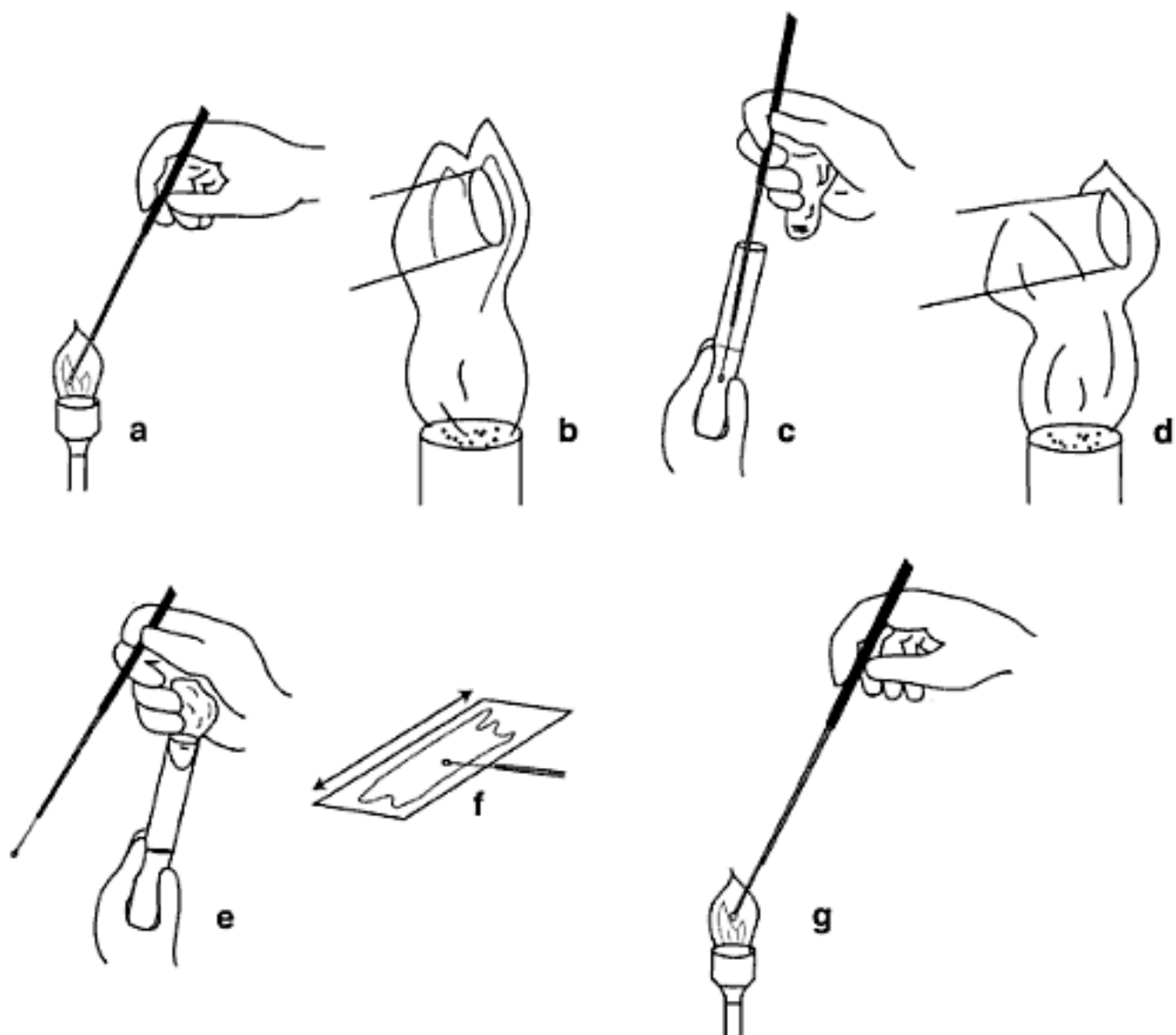


Fig. 31-1. Maniobras básicas en la práctica de laboratorio. **a.** Esterilización del asa. **b.** Flameado de la boca del tubo. **c.** Obtención de la muestra. **d.** Flameado de la boca del tubo. **e.** Colocación del tapón. **f.** Extendido. **g.** Esterilización del asa.

10. Finalizada la observación microscópica, levante la columna por medio del tornillo macrométrico.

11. Retire el preparado y limpie cuidadosamente el objetivo de inmersión con un papel especial para óptica.

También pueden visualizarse preparados en fresco (sin teñir), para lo cual se gradúa la entrada de luz con la ayuda del diafragma.

Mantenimiento y precauciones

- Descienda con precaución el objetivo para enfocar, ya que puede golpearse y romperse la lente propiamente dicha o el preparado.
- No deben tocarse las lentes con las manos. Límpielas con papel especial para óptica. Si el aceite se ha secado y está pegado en el objetivo, límpielo con un solvente especial que no disuelva el pegamento de las lentes.
- Nunca deje un preparado sobre la platina cuando no esté utilizando el microscopio.
- Si no usa el microscopio, deberá cubrirlo con una funda de plástico con el fin de evitar que se ensucien o se dañen las lentes.
- Mantenga el microscopio en lugares secos; en climas húmedos procure limpiarlo con frecuencia y mover los tornillos.

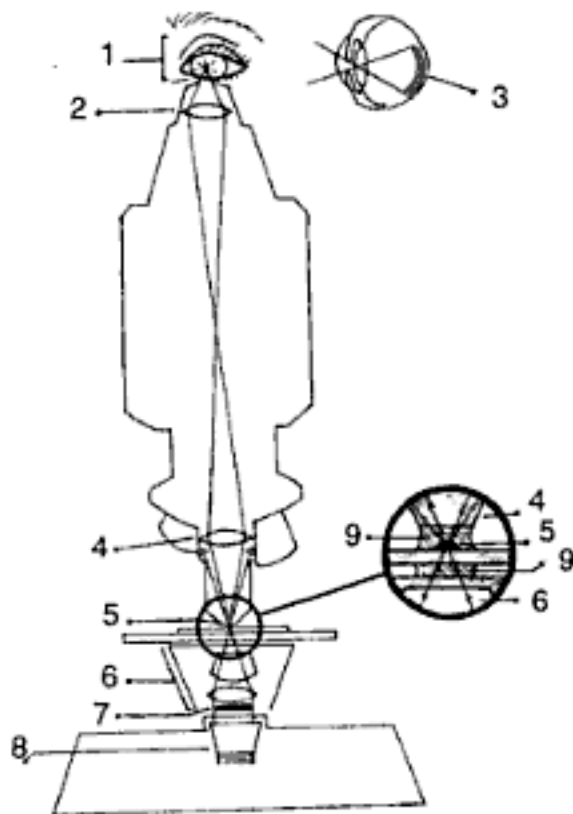


Fig. 31-8. Microscopio de campo oscuro. 1. Ojo. 2. Ocular. 3. Imagen. 4. Objetivo. 5. Muestra. 6. Condensador. 7. Disco opaco. 8. Foco. 9. Aceite de inmersión.

MICROSCOPIO DE CAMPO OSCURO

No siempre es deseable teñir un preparado; sin embargo, una célula sin teñir contrasta poco con su entorno y, por lo tanto, es difícil de ver; en estos casos es mejor recurrir al microscopio de campo oscuro.

Este microscopio se utiliza:

- Para examinar microorganismos difíciles de visualizar con el microscopio de campo claro debido a su pequeño tamaño (p. ej.: espiroquetas).
- Para detectar los distintos tipos de movimientos bacterianos.

La observación se realiza colocando una gota de la muestra sobre el portaobjeto y se cubre con un cubreobjeto, comprimiendo suavemente hasta que se forme una fina capa entre ambas láminas. Los microorganismos se observan suspendidos en un medio líquido, sin teñir y en estado vivo.

La muestra se visualiza como estructuras luminosas sobre un fondo negro (el campo oscuro). Para ello se necesita una luz intensa y condensadores especiales (cardioide o paraboloide), que contienen un disco opaco o disco de campo oscuro que bloquea el haz de luz de la parte central del

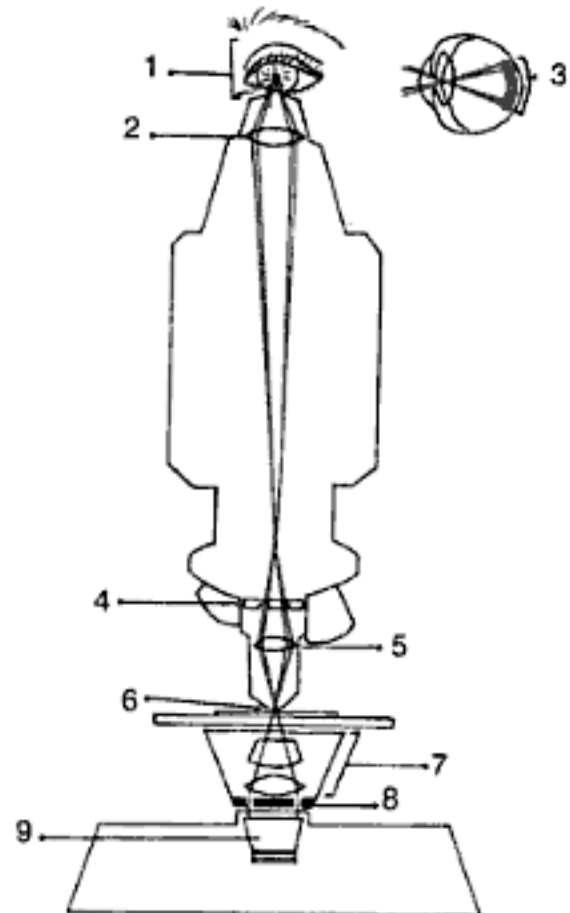


Fig. 31-9. Microscopio de contraste de fase. 1. Ojo. 2. Ocular. 3. Imagen. 4. Anillo de contraste de fase. 5. Objetivo. 6. Muestra. 7. Condensador. 8. Diafragma anular. 9. Foco.

condensador. Esto permite que sólo alcance el objeto un haz de luz delgado y oblicuo; por lo tanto, a las lentes del objetivo sólo llega la luz refractada y no la transmitida por la muestra. Este tipo de condensador se utiliza con un objetivo de gran potencia ($\times 100$). Además, el objetivo también debe tener incorporado un diafragma iris.

Para lograr una imagen correcta es imprescindible colocar una gota de aceite de inmersión sobre la lente del condensador (la cual debe contactar con la parte inferior del portaobjeto) y otra sobre el cubreobjeto (fig. 31-8).

Precauciones

Es necesario que tanto los portaobjetos como los cubreobjetos estén completamente limpios y no tengan imperfecciones, porque los objetos extraños o las rayaduras también reflejan la luz y producen un medio más brillante que el conveniente.

MICROSCOPIO DE CONTRASTE DE FASE

Los microorganismos también pueden observarse con un microscopio de contraste de fase. Éste proporciona una imagen clara y detallada de células vivas, ya que no es necesario ni fijar ni teñir el preparado. Permite el examen del aspecto, tamaño, agrupación, movilidad y estructuras internas de los microorganismos.

El microscopio de contraste de fase se basa en el hecho de que la velocidad de la luz es inversamente proporcional a los índices de refracción de los medios que atraviesa; es decir, que al pasar por un material transparente y después por otro de densidad diferente la luz emerge en fases distintas, o sea, con ligeras variaciones del índice de refracción.

Tiene el mismo límite de resolución que el microscopio óptico, pero permite distinguir mejor ciertos detalles.

Para este microscopio se necesitan algunos accesorios, a saber:

- Objetivos con anillos de fase que llevan marcado un determinado diámetro en su lente frontal.
- Un condensador de fase que lleva intercalado un disco opaco con una pupila circular (complementaria del anillo del objetivo correspondiente) que permite el paso de la luz a través del condensador enfocándolo sobre el preparado.

Cuando los rayos de luz atraviesan el preparado, su velocidad puede ser alterada por las diferencias de espesor o por las propiedades físicas de las distintas partes de la muestra. Es decir, cuando

sobre una partícula transparente incide un rayo de luz, se producen dos rayos, a saber:

- uno que es la continuación directa del rayo incidente que se dirige al anillo de desviación de fase donde este rayo es atrasado o adelantado, y
- otro que es refractado o desviado por la partícula, porque existen diferentes intensidades entre ella y el material adyacente. Al desviarse este rayo no llega al anillo de desviación y no altera la fase (fig. 31-9).

Cuando ambos rayos concurren de nuevo en el foco, sufren diferentes refracciones y se destacan unos de otros antes de alcanzar el ojo del observador. Estas variaciones de fase son detectadas como diferencias de contraste entre las estructuras internas del microorganismo y el medio, donde el material denso aparece brillante, mientras que las partes de la célula que tienen una densidad cercana al agua (citoplasma) aparecen oscuras. Los gérmenes se visualizan como una sombra brillante u oscura sobre un fondo iluminado.

MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA

Algunos colorantes denominados *fluorocromos* tienen la propiedad de ser excitados (pasar a un nivel superior de energía) cuando absorben luz ultravioleta (luz de longitud de onda corta). A medida que las moléculas excitadas regresan a su estado normal liberan el exceso de energía en forma de luz visible de mayor longitud de onda que la radiación excitante. Esta propiedad se denomina *fluorescencia* (véase cap. 31, 3ª parte: coloraciones fluorescentes).

El microscopio óptico compuesto puede transformarse en un microscopio de fluorescencia si se le introducen algunos cambios:

- Una fuente de luz de alta intensidad.
- Una lente de cuarzo para el condensador, dado que el vidrio de las lentes comunes es opaco a la luz ultravioleta de longitudes de onda cortas.
- Filtros de excitación para producir una longitud de onda capaz de provocar activación de fluorescencia.
- Filtros de barrera colocados entre el objetivo y el ocular para eliminar las longitudes de onda que pueden interferir y dañar al observador, de modo que sólo se ve la luz emitida.

Si un microorganismo es teñido con un colorante fluorescente y observado con este tipo de microscopio, se verá como un cuerpo brillante

sobre un fondo negro. Por ejemplo, la rodamina-auramina tiene gran afinidad por las sustancias ceras del bacilo tuberculoso, el que se observa como un cuerpo amarillo o naranja sobre un fondo verdoso. Esta afinidad se utiliza para detectar micobacterias en muestras sospechosas.

La brillantez real de la fluorescencia depende de:

- La eficacia de la tinción para convertir la luz incidente en luz fluorescente.
- La concentración de la tinción en el espécimen de tejido.
- La intensidad de la radiación absorbida (excitante).

Existen técnicas de "inmunofluorescencia" que se utilizan para detectar y localizar antígenos en células o tejidos, o anticuerpos en sueros (véase cap. 31, 6ª parte: técnicas de inmunomarcación).

MICROSCOPIO DE EPIFLUORESCENCIA

En 1967 Ploem introdujo un sistema de "epifluorescencia" que empleaba un iluminador vertical y un espejo dicróico.

El haz de excitación se enfoca directamente sobre el espécimen a través de la lente del objeti-

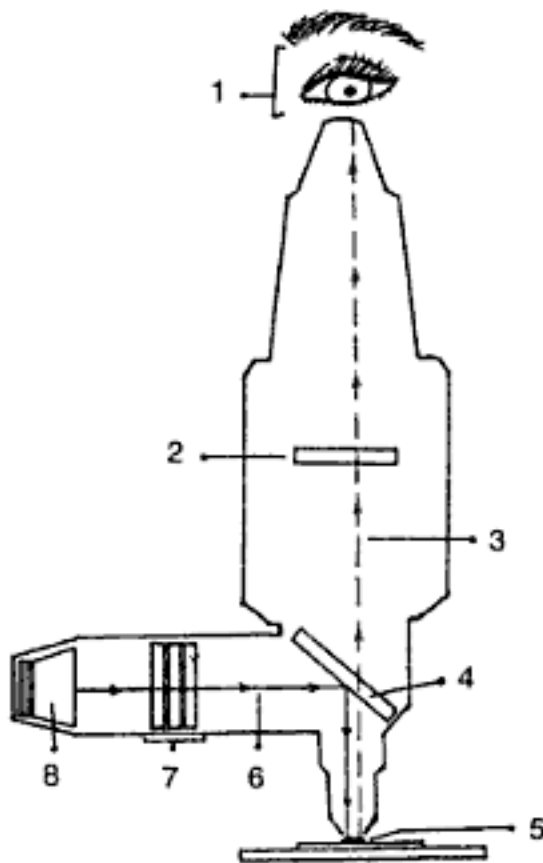


Fig. 31-10. Microscopio de epifluorescencia. 1. Ojo. 2. Filtro excitante. 3. Luz fluorescente. 4. Espejo dispersor. 5. Muestra. 6. Luz excitante. 7. Filtro barrera. 8. Foco.

vo. La luz fluorescente emitida se transmite al ojo del observador a través de un espejo dicróico que permite el paso de luz de longitudes de ondas seleccionadas, en una sola dirección.

El rayo de luz es captado por lentes colectoras y se dirige, a través del filtro excitador, directamente sobre el espécimen; cuando lo alcanza, éste es reflejado a través del espejo dicróico y la luz fluorescente emitida se ve en el ocular (fig. 31-10).

MICROSCOPIO CONFOCAL

La microscopia confocal se encuentra englobada dentro de la microscopia óptica, concretamente en la microscopia de fluorescencia.

Marvin Lee Minsky, en 1957, construyó y patentó un microscopio de barrido por etapas de doble enfoque que permitía observar con claridad capas sucesivas de una muestra, sin tener que rebanar el espécimen en finos cortes. Treinta años después su método es llamado *microscopia de barrido confocal*, progreso de la microscopia más notable del siglo XX.

Este microscopio incorpora:

- Fuente de iluminación de gran intensidad y sincrónicas, láser (*light amplification by stimulated emission of radiation*); generalmente, el más utilizado es el de argón-kriptón.
- Un juego de diafragmas:
 - un diafragma de iluminación o *pinhole* de excitación, generalmente de tamaño invariable y localizado tras la fuente luminosa, y
 - un diafragma de detección o *pinhole* de emisión, de tamaño variable situado delante del fotodetector. La utilidad de éste es eliminar la luz proveniente de planos superiores e inferiores al plano focal, lo que aumenta la claridad y la resolución de la imagen.
- Un sistema de captación de imagen electrónico permite la obtención de imágenes de finas *secciones ópticas* obtenidas a diferentes profundidades, las que pueden ser archivadas en una computadora, lo cual permite luego reconstruir una imagen tridimensional.

El haz de láser es dirigido a un punto concreto del plano focal. La luz reflejada por la muestra o la fluorescencia emitida es captada por un fotodetector, una vez que atraviesa el diafragma. La imagen focal se obtiene tras explorar o "barrer" la muestra (*scanning*) con el láser. Las imágenes obtenidas son siempre imágenes digitales debido a que los fotodetectores transforman la señal lumínica en una señal eléctrica que, mediante el sistema infor-

Cuando el haz de electrones incide sobre una superficie plana, emite electrones secundarios que son captados por un detector. Si la superficie no es lisa, la cantidad de electrones secundarios es mayor y, por consiguiente, el objeto se ve más luminoso.

Como ya dijimos, la longitud de onda de la radiación de electrones es mucho más pequeña que la de la luz visible y, como el poder de resolución de un microscopio es inversamente proporcional a la longitud de onda utilizada, la resolución de un microscopio electrónico (1 nm) es mucho mayor que la conseguida con el microscopio óptico compuesto.

El microscopio electrónico puede amplificar un objeto de 10.000 a 100.000 veces su tamaño y mediante procedimientos de amplificación fotográfica es posible llegar hasta un aumento de un millón de veces.

Cuanto mayor sea la magnificación, menor será el poder de resolución. Lo ideal es 20.000 aumentos.

Las ondas electrónicas no son visibles y, por lo tanto, la imagen que se forma del objeto al interceptar estas ondas se proyecta como una sombra que sólo puede verse en una pantalla fluorescente al vacío o sobre una placa fotográfica; de esta manera, se obtienen microfotografías electrónicas o videos para conservar las imágenes en forma permanente.

Microscopio electrónico de barrido

En microbiología el microscopio electrónico de barrido se utiliza tanto para observar muestras de gran tamaño como para estudiar la morfología de los virus y de otros microorganismos pequeños (*Rickettsia*, *Chlamydia* y *Mycoplasma*), y proporciona una imagen detallada y tridimensional de las estructuras superficiales de los gérmenes.

En este microscopio la imagen se forma por amplificación electrónica de señales generadas al irradiar la superficie de la muestra con un haz muy estrecho de electrones (haz primario). Esta irradiación hace que la muestra desprenda electrones de baja energía (haz secundario) que pueden ser recogidos sobre una placa cargada positivamente (ánodo), lo que genera una señal eléctrica que es proporcional al número de electrones que inciden en el ánodo.

Mediante el uso de un generador de barrido se hace que el haz de electrones atraviese la muestra siguiendo un rastreo de trama. Esta señal (generada por los electrones secundarios que inciden sobre el ánodo) se amplifica y se utiliza para modular la intensidad de un punto que barre un tubo de rayos catódicos. De este modo, en dicho

tubo aparece una imagen ampliada de la topografía de la superficie de la muestra. La profundidad de foco de este microscopio es de varios milímetros y su amplificación abarca de 20 a más de 20.000 aumentos.

MICROSCOPIO DE FUERZA ATÓMICA

Gerd Binnig introdujo esta técnica en 1986, el mismo año en que recibió el Premio Nobel de Física, junto con Heinrich Rohrer y Ernst Ruska, por el desarrollo de la microscopía de efecto túnel (*Atomic Force Microscope*, AFM). Usa una aguja muy fina al final de un soporte flexible para hacer un barrido sobre la superficie de la muestra. Las deflexiones del soporte medidas a una resolución de unos pocos nanómetros sirven para determinar el contorno de la muestra, generando imágenes que muestran la topografía de la superficie de las biomoléculas analizadas. Con esta técnica se han conseguido revelar características submoleculares de biomoléculas aisladas. También es posible detectar mínimos cambios estructurales en la superficie de una biomolécula con una resolución temporal de unos pocos milisegundos, suficiente para poder monitorizar cambios en la conformación implicados en procesos biológicos concretos.

MICROSCOPIO DE EFECTO TÚNEL

Este microscopio utiliza un fenómeno de la física cuántica, denominado efecto túnel (*Scanning Tunneling Microscope*, STM), para proporcionar imágenes detalladas de sustancias conductoras de electricidad. La sonda se coloca a una distancia de pocos nanómetros de la superficie del material y se aplica un voltaje pequeño entre la superficie y la sonda. A causa de la poca distancia entre el material y la sonda algunos electrones se escapan a través del hueco, y generan una corriente. La magnitud de la corriente del efecto túnel depende de la distancia entre la superficie y la sonda. El flujo de corriente es mayor cuando la sonda se acerca al material y disminuye cuando se aleja. A medida que el mecanismo de barrido mueve la sonda por encima de la superficie, se ajusta de modo automático la altura de la sonda para mantener constante la corriente del efecto túnel. Estos ajustes minúsculos permiten dibujar las ondulaciones de la superficie. Después de muchas pasadas hacia adelante y hacia atrás se utiliza una computadora para crear una representación tridimensional del material.

La resolución del microscopio de efecto túnel es espectacular: menos de un décimo del radio promedio de un átomo, y ha permitido obtener mapas muy precisos de superficies de metales o de semiconductores, en los que cada átomo puede distin-

guirse de su vecino, y ha proporcionado también imágenes atómicas de moléculas de DNA.

El STM y el AFM forman parte de las herramientas más poderosas en la investigación en nanotecnología.

Preguntas de revisión

1. Mencione los elementos que componen un microscopio óptico común.
2. ¿Cuáles son las precauciones necesarias para el buen funcionamiento del microscopio?
3. Enumere las utilidades del microscopio de campo oscuro.
4. ¿Qué utilidades nos brinda el microscopio de contraste de fase?
5. ¿Qué diferencias existen entre una microscopía de fluorescencia y una de epifluorescencia?
6. ¿Qué ventajas ofrece el microscopio confocal?
7. Mencione qué utilidades tiene el uso del microscopio confocal.
8. ¿Qué diferencias ofrece el microscopio multifotón con respecto al confocal?
9. ¿Cuántos tipos de microscopio electrónico conoce y cuál es la utilidad de cada uno?

BIBLIOGRAFÍA

Bob A, Freeman PhD. Microbiología de Burrows. España: Interamericana, 1986; pp.18-19.

Brock TD. Biología de los microorganismos. España: Editorial Omega, 1973; pp. 19-30.

Brock TD, Madigan MI. Microbiología. 6ª ed. México: Editorial Prentice Hall Hispano-Americana, 1991; pp. 48-49 y pp. 73-74.

De Torres RA. Evolución de las ideas básicas en el desarrollo de la microbiología. En: Basualdo JA, Coto CE y de Torres RA. Microbiología biomédica. Buenos Aires: Editorial Atlante, 2006; pp. 6.

Hall-Stoodley L, Fen Ze Hu A, Gieseke A, Nistico L, Nguyen Dm Hayes Jm Forbes M, Greenberg DP, Dice B, et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. JAMA, 2006; 296:202-11.

Nolte WA. Microbiología odontológica. 4ª ed. México: Editorial Interamericana, 1986; pp. 4-5.

Stainer RY, Ingraham JL, Wheelis ML y col. Microbiología. 2ª ed. España: Editorial Reverté, 1996; pp. 39-45.

Stites DP, Channing Rodgers RP. Métodos de laboratorio clínico para la detección de antígenos y anticuerpos. En: Stites DP, Terr AR. Inmunología básica y clínica. 7ª ed. México: Editorial El Manual Moderno, 1993; pp. 274-77.

Velazco J, Alonso-Urmeneta B. El microscopio. En: Díaz R, Gamazo C, López-Goñi Y. Manual práctico de microbiología. España: Editorial Masson, 1995; pp. 21-4.

<http://www.fisio.buap.mx/online/confocal/confocal.htm>.

http://scsie.uv.es/1004/uci_medicina/confocal.html.

<http://www.cnb.csic.es/~fotonica/Multifot%F3n/Multifot%F3n.htm>.

http://www.technologyreview.com/articles/05/05/issue/ftl_nano.asp?p=1.

<http://www.technologyreview.com/Nanotech/14419/>

http://www.botanica.cnba.uba.ar/Trabprac/Tp1/microscopio_tunel.html.

MÉTODOS DE OBSERVACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS

Susana Molgantini y María del Carmen Manto

Contenidos

Observación en fresco. Técnica. Preparación de un extendido. Técnica. Soluciones colorantes. Leucoderivados. Clasificación de las técnicas de tinción biológicas. Otras técnicas de observación.

Objetivos

- Enumerar las ventajas y las limitaciones de la observación en fresco.
- Describir la técnica de preparación de un extendido.
- Enumerar las ventajas y utilidades de la coloración simple.
- Describir las técnicas de coloraciones diferenciales o compuestas y sus utilidades.
- Enumerar las ventajas y las desventajas de la tinción de Giemsa.
- Justificar el uso de los métodos de tinción de cápsula, endosporas y flagelos.
- Mencionar los fluorocromos más utilizados e indicar la utilidad de cada uno.

INTRODUCCIÓN

La observación microscópica puede efectuarse mediante el examen en fresco de una suspensión microbiana, lo que permite visualizar microorganismos vivos y reconocer sus movimientos, apreciar sus distintas formas, tamaños y agrupaciones, o bien, mediante un extendido o frotis coloreado, lo que posibilita, según la técnica utilizada, diferenciar microorganismos, observar su morfología, tamaño y agrupación o la observación de ciertos elementos no habituales, como flagelos, cápsula o endosporas. Las coloraciones fluorescentes tienen afinidad especial por ciertas estructuras de las células microbianas, que al ser tratadas con distintos fluorocromos y observadas al microscopio de fluorescencia se ven como elementos brillantes sobre un fondo oscuro.

OBSERVACIÓN EN FRESCO

El examen en fresco de una suspensión microbiana se usa para examinar muestras clínicas sin colorear, lo que evita los artificios que pueden ocasionar la fijación y la coloración.

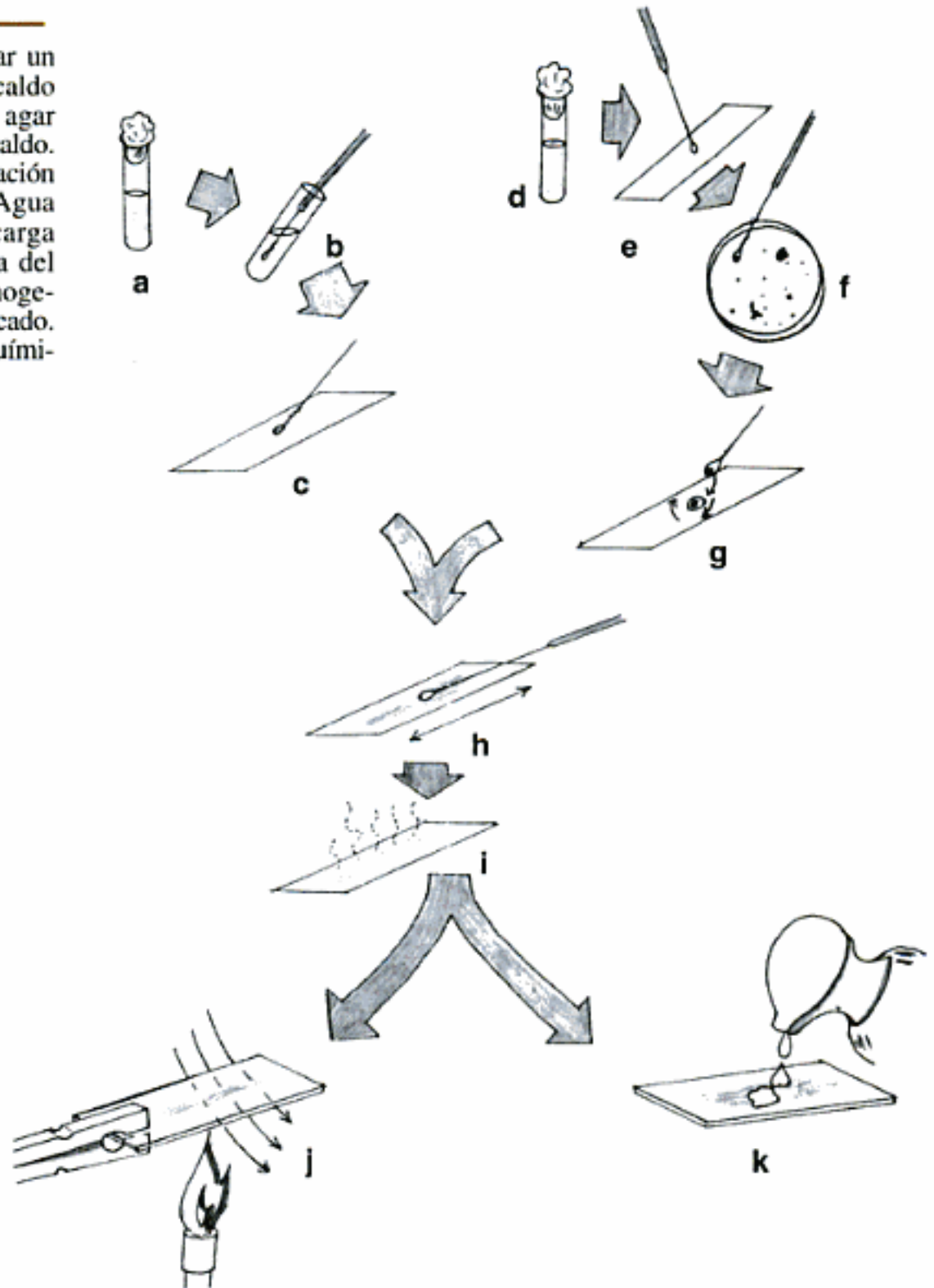
Esta técnica permite observar microorganismos vivos y ciertas funciones fisiológicas, como la movilidad, así como apreciar sus distintas formas, tamaños y agrupaciones. Se utiliza principalmente para la visualización de bacterias, hongos unicelulares, protozoos y helmintos.

Técnica

1. Tomar una gota de la muestra con el asa bacteriológica esterilizada y depositarla sobre un portaobjeto.
2. Colocar vaselina sólida o parafina en los bordes de un cubreobjeto para disminuir el secado del preparado, que se ve favorecido por el tiempo y el calor del foco luminoso.
3. Cubrir la gota con el cubreobjeto. Para evitar que se formen burbujas debe depositarse primero una arista y luego el resto de él.
4. Observar por medio del microscopio óptico compuesto, de contraste de fase o de campo oscuro.

Esta técnica puede ser utilizada en microbiología bucal para el recuento de los microorganismos

Fig. 31-12. Pasos para realizar un extendido a partir de un caldo (medio líquido) o de un agar (medio sólido). **a.** Cultivo en caldo. **b.** Toma con asa. **c.** Colocación sobre un portaobjeto. **d.** Agua destilada estéril. **e.** Descarga sobre el portaobjeto. **f.** Toma del desarrollo en agar. **g.** Homogenización. **h.** Extendido. **i.** Secado. **j.** Fijación física. **k.** Fijación química.



Leucoderivados

Todos los colorantes biológicos tienen alta afinidad por el hidrógeno. Cuando todos los sitios moleculares que pueden unir hidrógeno están ocupados, el colorante se halla en su estado reducido y es generalmente incoloro; se denomina **leucoderivado**. La persistencia del color está dada por la presencia de aire, debido a que el oxígeno tiene una afinidad más alta por el hidrógeno que la mayoría de los colorantes. Un ejemplo de esto es el azul de metileno, usado en un ambiente anaeróbico como indicador de óxido-reducción (véase cap. 31, 4ª parte: cultivos anaeróbicos).

Clasificación de las técnicas de tinción biológicas

Coloración simple

Las coloraciones simples son las que emplean un solo colorante, ácido o básico, y tiñen todos los elementos de un mismo color. Los tintes más utilizados para esta técnica son: azul de metileno, verde de malaquita, rojo fenol, verde Janus, violeta de genciana, etcétera.

Técnica

Esta tinción se realiza a partir de un extendido previamente fijado con el método de Koch.

1. Cubrir la superficie del preparado con la solución colorante y dejar actuar durante 2 minutos.
2. Lavar con abundante agua.
3. Dejar secar al aire.
4. Observar el preparado al microscopio con objetivo de inmersión.

La ventaja de esta técnica es su sencillez, lo que permite observar en minutos las distintas morfologías, tamaños y agrupaciones bacterianas. Su desventaja consiste en que no es posible diferenciar si en la muestra existen microorganismos de distinta composición química.

Coloración diferencial o compuesta

Esta tinción utiliza dos colorantes en forma sucesiva; las más empleadas en bacteriología son la coloración de Gram y la de Ziehl-Neelsen. En estas coloraciones se usan cuatro componentes:

- El **colorante primario o principal** colorea a los microorganismos cargados negativamente por tratarse de un colorante básico.
- El **mordiente** determina que el colorante primario actúe con mayor intensidad y logra que se fije más íntimamente a los gérmenes. Existen diferentes tipos de mordientes: químicos, que incluyen sales metálicas, solución yodada o lugol, tanino, fenol, etcétera, y físicos, como el calor.
- El **agente decolorante** es un solvente orgánico, como el alcohol, alcohol acetona o ácidos.
- El **colorante secundario o contracolor** es un tinte básico, cuyo color contrasta con el colorante primario.

Coloración de Gram

La coloración de Gram (véase la lista de acontecimientos históricos), es la más utilizada en el laboratorio microbiológico para la observación de especímenes, facilita la observación microscópica y permite diferenciar dos grandes grupos de eubacterias: **grampositivas** y **gramnegativas**. Existen varias modificaciones de la técnica original.

Técnica

Esta tinción se realiza a partir de un extendido previamente fijado con el método de Koch.

1. Cubrir la superficie del preparado con cristal violeta o violeta de genciana y dejar en contacto durante 1 minuto (**colorante primario**).

2. Lavar con abundante agua.
3. Cubrir con lugol durante 1 minuto (**mordiente**).
4. Lavar con abundante agua.
5. Inclinar el portaobjeto y dejar gotear el alcohol acetona hasta que el preparado deje de perder color (**decolorante**).
6. Lavar con abundante agua.
7. Cubrir el preparado con fucsina básica durante 1 minuto (**contracolor**).
8. Lavar con abundante agua.
9. Dejar secar el preparado.
10. Observar al microscopio con objetivo de inmersión.

Fundamento

La afinidad grampositiva o gramnegativa de las bacterias depende de la composición y estructura química de la pared celular (véase cap. 3).

Al observar el preparado con el microscopio, después de realizar los primeros cuatro pasos, todas las bacterias se ven de color violeta. Luego de aplicar el decolorante algunas bacterias conservan el color, mientras que otras se decoloran. Las que mantienen el color violeta se denominan **grampositivas** y las que lo pierden se llaman **gramnegativas**. Esto se debe a que el alcohol acetona (decolorante) desorganiza la membrana externa de las bacterias gramnegativas (constituida principalmente por lipoproteínas y lipopolisacáridos) y permite la salida del colorante primario, de modo que los microorganismos quedan desprovistos de color. Al agregar el contracolor éstos se tiñen de rojo.

Ventajas y utilidades

- Es un método rápido y sencillo.
- Permite observar la forma, el tamaño y la agrupación de los microorganismos (en cadena, de a pares, etcétera).
- Permite diferenciar bacterias **grampositivas** de **gramnegativas**.
- Permite saber si la microbiota es mixta o mono-específica.
- Proporciona orientación terapéutica.
- Posibilita la conservación de los preparados.

Desventajas

- Algunas bacterias, como las micobacterias y ciertos hongos, pueden no tomar la coloración de Gram.
- Tiñe débilmente bacterias sin pared celular, como los *Mollicutes*.

Coloración de Ziehl-Neelsen

Fue Erlich quien ideó una coloración para microorganismos ácido-alcohol resistente; actualmente se emplea una técnica que es una modificación de la original y que recibe el nombre de coloración de Ziehl-Neelsen. Se utiliza para diagnosticar bacterias del género *Mycobacterium* y algunas especies de *Nocardia*, *Corynebacterium* y *Actino-mycetes*. Las diferencias fundamentales con la coloración de Gram radican en que el colorante primario (fucsina) se halla asociado a un mordiente químico (ácido fénico o carbólico), al que se aplica un mordiente físico (calor) y que la decoloración se realiza mediante la combinación de dos solventes orgánicos, como el ácido y el alcohol.

Técnica

Esta tinción se realiza a partir de un extendido previamente fijado con el método de Koch.

1. Cubrir el preparado con carbolfucsina (colorante primario + un primer mordiente).
2. Pasar un hisopo encendido por debajo del portaobjeto hasta llegar sólo a la emisión de vapores, durante 5 minutos (calor: mordiente físico o segundo mordiente).
3. Lavar con abundante agua.
4. Inclinar el portaobjeto y dejar caer gota a gota el ácido alcohol hasta que el preparado deje de perder color (decolorantes: ácido sulfúrico al 3% en alcohol etílico).
5. Lavar con abundante agua.
6. Cubrir el preparado con azul de metileno durante 1 minuto (contracolor).
7. Lavar con abundante agua.
8. Dejar secar el preparado.
9. Observar al microscopio con objetivo de inmersión.

Fundamento

La coloración de Ziehl-Neelsen pone de manifiesto la capacidad que tienen algunas bacterias de resistir a la decoloración por ácidos y alcohol. Esta propiedad se debe al alto contenido de lípidos complejos (ácidos micólicos) y ceras que poseen algunos microorganismos en su pared celular (véase cap. 3).

Los gérmenes que resisten la decoloración se denominan **bacterias ácido-alcohol resistentes (BAAR)** y se ven de color rojo en los extendidos coloreados, mientras que los microorganismos que no resisten la acción de los decolorantes se llaman **bacterias no ácido-alcohol resistentes (no BAAR)** y se ven de color azul.

Coloración de Kinyoun

Esta técnica es similar a la de Ziehl-Neelsen pero con tres diferencias básicas: no se calienta el colorante principal (no utiliza calor como segundo mordiente), el ácido utilizado para decolorar es más débil y no se decolora con alcohol.

Las coloraciones de Ziehl-Neelsen y de Kinyoun tienen la misma sensibilidad y especificidad; pero esta última (método frío) requiere menos tiempo, es de ejecución más sencilla y se utiliza para diferenciar el género *Mycobacterium* del género *Nocardia*.

Otras técnicas de observación

Coloración de Giemsa

Es una modificación de la coloración de Romanowsky, resulta de la combinación de eosina y azul de metileno en una misma solución.

Esta técnica es utilizada en los laboratorios de hematología para demostrar la diferencia entre el núcleo y el citoplasma de las distintas células sanguíneas y en microbiología para la diferenciación intracelular y extracelular de parásitos en sangre circulante, en particular de especies de *Plasmodium* y *Leishmania*, para la observación de formas levaduriformes de especies de *Candida*, *Histoplasma capsulatum* y *Pneumocystis jirovecii* para la visualización de inclusiones virales (si se prolonga el tiempo de aplicación del colorante a 12 horas o más) y para la observación de especies de *Mollicutes*, *Rickettsias* y cuerpos elementales de *Chlamydia*.

Técnica

1. Cubrir la superficie del extendido durante 5 minutos con alcohol metílico y eliminar el excedente (**fijación química**).
2. Cubrir el preparado con solución de Giemsa diluida (2 gotas de eosianato de azul de metileno por cada mL de agua destilada) y dejar actuar durante 20 minutos.
3. Lavar con agua.
4. Dejar secar el preparado al aire.
5. Observar al microscopio con objetivo de inmersión.

Las ventajas de esta técnica consisten en que permite la detección de múltiples microorganismos e inclusiones virales, si bien no es específica para éstas y facilita la observación de los elementos celulares de la respuesta inflamatoria, con menos artificios de técnica debido a la fijación química.

Entre sus desventajas podemos mencionar que no permite determinar la afinidad tintorial de las paredes de las bacterias, por lo que debe ser usada con otros procedimientos de coloración.

Tinción de cápsulas

Las cápsulas bacterianas y micóticas no tienen la misma afinidad por los colorantes que otros componentes celulares, por ese motivo se utiliza el método de tinción negativa para su observación. En esta técnica se emplea **tinta china** (suspensión de partículas de carbón) o **nigrosina** (colorante negro insoluble en agua), que constituyen una suspensión coloidal que no puede penetrar a través de la cápsula, sino que precipita alrededor de ella; de este modo, esta estructura se ve como un halo refringente alrededor de los microorganismos sobre un fondo pardo oscuro o negro.

Técnica

1. Sobre el extremo de un portaobjeto colocar una gota de suspensión microbiana y agregar una gota de tinta china o nigrosina.
2. Homogeneizarlas con asa estéril.
3. Con otro portaobjeto, realizar un frotis.
4. Dejar secar.
5. Observar al microscopio cerrando ligeramente el diafragma del condensador.

Tinción de endosporas

Como las endosporas poseen varias envolturas, que las hacen impermeables, para lograr tñirlas debe recurrirse a métodos especiales de coloración que utilizan el calor, el cual permite la penetración del colorante dentro de esas cubiertas. Uno de los métodos más empleados es el que utiliza una solución acuosa de verde de malaquita, que actúa bajo la acción del calor y tñe las endosporas de verde, y como contracolor, safranina o fucsina que tñe las formas vegetativas de rojo.

Tinción de flagelos

Como los flagelos son apéndices extracelulares delgados, para poder visualizarlos es necesario engrosar su diámetro mediante el empleo de técnicas especiales.

Una de las tinciones utilizadas con mayor frecuencia se realiza cubriendo el extendido con una suspensión coloidal inestable de sales de ácido tánico que precipita sobre estas estructuras, lo que aumenta su tamaño. Luego se cubre con solución de fucsina ácida, lo que permite observarlos de color rojo.

Tinción de Fontana-Tribondeau

Algunas formas espiraladas de bacterias (p. ej., *Treponemas spp*) son tan delgadas que no pueden tñirse bien con los métodos convencionales y, en consecuencia, se requiere algún artificio técnico que aumente su diámetro y facilite su observación. Para ello se utilizó la impregnación argéntica de Fontana-Tribondeau, mal llamada tinción, porque en realidad es una precipitación de sales de plata que se depositan sobre las estructuras celulares, lo que aumenta su espesor y permite ver a los microorganismos de un color pardo oscuro sobre un fondo pardo claro en una observación microscópica con objetivo de inmersión.

Sin embargo, esta técnica ha caído en desuso por lo laboriosa y en la actualidad ha sido reemplazada por la observación a través del microscopio de campo oscuro o por las coloraciones fluorescentes.

Coloraciones fluorescentes

La fluorescencia es la propiedad que tienen algunos colorantes denominados **fluorocromos** de ser excitados cuando absorben luz ultravioleta. A medida que las moléculas excitadas regresan a su estado normal, liberan el exceso de energía en forma de luz visible (véase cap. 31, 2ª parte: microscopio de fluorescencia).

Entre los fluorocromos más utilizados se encuentran el naranja de acridina, la rodamina-auramina y el blanco de calcoflúor. El **naranja de acridina** tiene afinidad especial por los ácidos nucleicos. Luego de su aplicación, al examinar el frotis con el microscopio de fluorescencia, los gérmenes presentan una coloración naranja brillante sobre un fondo verdoso oscuro. Se utiliza, principalmente, para el estudio de microorganismos en hemocultivos y líquido cefalorraquídeo. La **rodamina-auramina** es un fluorocromo con especial afinidad por los ácidos micólicos de la pared celular de las micobacterias, las que se observan de color amarillo o naranja brillante contra un fondo verdoso. Este procedimiento permite que los frotis, luego de eliminado el aceite de inmersión, puedan ser reteñidos con las técnicas de Ziehl-Neelsen o Kinyoun, lo que posibilita la confirmación y diferenciación morfológica. El **blanco de calcoflúor** tiene una afinidad especial por la celulosa y la quitina presentes en la pared celular de los hongos; por lo tanto, es de utilidad para detectar, en raspados de piel y membranas mucosas, células levaduriformes, hifas y pseudohifas. Estas estructuras, cuando se las observa microscópicamente, presentan un brillo verde manzana o azul blanquecino fantasmal, dependiendo de la longitud de onda de la luz excitadora, sobre un fondo rojizo oscuro.

BIBLIOGRAFÍA

- Chapin K. Clinical microscopy. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC y Tenover RH. Manual of clinical microbiology. 6ª ed. Washington: ASM Press, 1995; pp. 37-51.
- Delgado Iribarren A, Amici S, Prieto S, Salve ML. Laboratorio de Microbiología. España: McGraw-Hill-Interamericana, 1994; pp. 55.
- Finegold SM, Baron EJ, Bailey Scott. Diagnóstico microbiológico. Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1989; pp. 114-115.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Microbiología médica. México: Editorial Manual Moderno, 1993; pp. 31-33.
- Koneman EW, Winn (h) WC, Allen SD, Janda WM, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL. Introducción a la microbiología. Parte I: el papel del laboratorio de microbiología en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas: guía para la práctica y el tratamiento. En: Koneman. Diagnóstico microbiológico. Texto y atlas en color. 6ª ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana, 2008; pp. 17-26.
- Martínez de Tejada G. Examen en fresco de microorganismos. En Díaz R, Gamazo C, López-Goñi Y. Manual práctico de microbiología. España: Editorial Masson, 1995; pp. 25-27.
- Martínez de Tejada G. Preparación de un frotis bacteriano y coloración simple. En: Díaz R, Gamazo C, López-Goñi Y. Manual práctico de microbiología. España: Editorial Masson, 1995; pp. 28-32.
- Negroni P, Negroni R. Micosis cutáneas y viscerales. 9ª ed. Argentina: López Libreros Editores, 1990; pp. 234.
- Prats G. Microbiología médica. Cuaderno de prácticas y demostraciones. España: Ediciones Doyma, 1993; pp. 5 y 31-32.
- Santillán MA. Morfología y estructura bacteriana. En: Basualdo JA, Coto CE, de Torres RA. Microbiología biomédica. 2ª ed. Argentina: Editorial Atlante, 2006; pp. 58-60.
- Velazco J. Tinción ácido-alcohol resistencia (Ziehl-Neelsen). En: Díaz R, Gamazo C, López-Goñi Y. Manual práctico de microbiología. España: Editorial Masson, 1995; pp. 39-41.
- Velazco J. Tinción de esporas. En Díaz R, Gamazo C, López-Goñi Y. Manual práctico de microbiología. España: Editorial Masson, 1995; pp. 36-38.
- Velazco J. Tinción de Gram. En: Díaz R, Gamazo C, López-Goñi Y. Manual práctico de microbiología. España: Editorial Masson, 1995; pp. 33-35.
- Velazco J. Tinción negativa de cápsulas. En: Díaz R, Gamazo C, López-Goñi Y. Manual práctico de microbiología. España: Editorial Masson, 1995; pp. 42-44.

MEDIOS DE CULTIVO Y SIEMBRA

Susana Molgantini y María del Carmen Manto

Contenidos

Medios de cultivo. Condiciones que debe reunir. Constituyentes habituales. Clasificación. Cultivos anaeróbicos. Cultivos para hongos. Cultivos celulares. Siembra. Aislamiento. Examen de las características de un cultivo. Trasplante. Preservación de los microorganismos aislados.

Objetivos

- Definir qué es un medio de cultivo y citar sus principales constituyentes habituales.
- Mencionar las condiciones que deben reunir los medios de cultivo.
- Clasificar los medios de cultivo según su estado físico, origen y utilidad.
- Mencionar los diferentes sistemas para realizar cultivos anaeróbicos.
- Explicar cómo se realiza la identificación de hongos filamentosos y levaduriformes.
- Explicar qué es un cultivo celular "in vitro" y cuál es su utilidad.
- Definir qué significa sembrar un microorganismo y cuáles son sus finalidades.
- Explicar para qué se realiza el aislamiento y el trasplante de un microorganismo.
- Citar dos métodos de preservación de los microorganismos aislados.

Las tendencias actuales en microbiología clínica apuntan al desarrollo de métodos rápidos de diagnóstico (que no dependan del crecimiento microbiano) para determinar la presencia de agentes infecciosos; sin embargo, el aislamiento y la identificación de los patógenos viables son técnicas irremplazables para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas.

MEDIOS DE CULTIVO

Un medio de cultivo es una solución equilibrada de todos los nutrientes y factores de crecimiento necesarios para el desarrollo y la multiplicación de los microorganismos en el laboratorio (véase cap. 6). El objetivo es aislar las diversas especies, proceder a identificarlas o llevar a cabo estudios complementarios.

La diversidad metabólica de los gérmenes es enorme; hay bacterias que pueden crecer satisfac-

toriamente en cualquier medio de cultivo; otras necesitan medios especiales y, por último, algunas no crecen en ninguno de los medios desarrollados hasta el momento. Por tal motivo, no existe un medio de cultivo universal para todas ellas.

Condiciones que debe reunir

Para promover el desarrollo microbiano, los medios de cultivo deben reunir ciertos requisitos:

- Contener nutrientes adecuados.
- Poseer humedad suficiente.
- Tener un pH ajustado.
- Estar estéril inicialmente.

Existen en el comercio especializado, una gran variedad de medios disponibles para el cultivo de microorganismos en el laboratorio; la mayor parte de ellos traen sus componentes previamente mezclados, deshidratados o liofilizados y sólo necesitan la adición de agua para su preparación.

Constituyentes habituales

Agua: es uno de los componentes básicos y universales para la vida de los microorganismos. Se la utiliza para disolver los demás constituyentes del medio. Generalmente, se emplea agua destilada o desionizada y no debe contener cloro, plomo ni detergente.

Extractos: son pulverizados de órganos o de tejidos animales y vegetales (p. ej., cerebro, carne, semillas, etc.) que brindan hidratos de carbono, compuestos nitrogenados, vitaminas hidrosolubles, compuestos azufrados y sales.

Peptona: es obtenida como producto de la digestión de sustancias proteicas y sirve como fuente de carbono, nitrógeno y energía.

Hidratos de carbono: por medio de su degradación enzimática los glúcidos otorgan energía, oxígeno, hidrógeno y carbono a los microorganismos. El más utilizado es la glucosa, pero también se emplean fructosa, sacarosa, lactosa y almidón.

Cloruro de sodio (sal): no es imprescindible, pero su adición regula las propiedades osmóticas del medio con el fin de evitar los fenómenos de plasmólisis.

Líquidos corporales: a menudo se añaden a los medios de cultivo sangre entera, plasma o suero sanguíneo estériles, tanto de origen humano como animal; estos líquidos aportan factores de crecimiento esenciales.

Sistemas amortiguadores: consisten en sales, como fosfatos bisódicos o bipotásicos, que son incorporados a los medios de cultivo para mantener el pH dentro del espectro de crecimiento microbiano y como fuente de fósforo.

Indicadores de pH: se incorporan a los medios de cultivo para dar prueba visual de las variaciones del pH.

Agentes reductores: se agregan con el fin de crear atmósferas óptimas para el crecimiento de gérmenes microaerófilos, anaerobios facultativos y estrictos. Como ejemplo, podemos citar la cisteína y el tioglicolato de sodio.

Agentes selectivos: el cristal violeta, las sales biliares, el telurito de potasio, los antibióticos, etc., agregados al medio lo pueden convertir en selectivo para determinados microorganismos.

Agar: agregado al 1-2% otorga solidez a los medios de cultivo; se lo obtiene de ciertas algas marinas y no es un nutriente, porque resulta resistente a la hidrólisis microbiana. El agar es insoluble en agua fría, funde entre los 80 °C, y los 100 °C, y se mantiene en este estado hasta los 45 °C, temperatura por debajo de la cual comienza a solidificar.

Clasificación

Los medios de cultivo pueden clasificarse según diferentes criterios (cuadro 31-2).

A. Por su estado físico:

- Líquidos:** se denominan comúnmente “caldos”, están constituidos por nutrientes en solución acuosa y son semejantes a un caldo casero filtrado y esterilizado. Por lo general, se los utiliza para el mantenimiento de los microorganismos (p. ej: caldo nutritivo, infusión cerebrocorazón [BHI], mitis salivarius Gold).
- Sólidos:** llamados generalmente “agar”, se obtienen añadiendo a un medio de cultivo líquido una sustancia gelificante como el agar al 1,5-2%. Para su manipulación en el laboratorio estos medios deben colocarse en cajas de Petri o en tubos de ensayo. En estos últimos, el medio de cultivo puede dejarse solidificar con el tubo inclinado para obtener una mayor superficie de siembra (“agar inclinado o pico de flauta o *slant*”) (fig. 31-13a) o dejarse enfriar con el tubo en posición vertical (“agar columna”) (fig. 31-13b). Los medios sólidos (p. ej.; agar sangre, agar BHI, agar mitis salivarius, entre otros) se utilizan para aislar e individualizar los distintos tipos de microorganismos presentes en una muestra.
- Semisólidos:** son medios de cultivo líquidos con el agregado de agar al 0,3 o 0,5% (p. ej.; agar blando). Puede utilizárselos para determinar la motilidad de los gérmenes.

B. Por su origen:

- Medios naturales:** se obtienen a partir de sustancias naturales animales o vegetales (p. ej.;

Cuadro 31-2. Clasificación de los medios de cultivo

Por su estado físico	<ul style="list-style-type: none"> Líquidos Sólidos Semisólidos
Por su origen	<ul style="list-style-type: none"> Naturales Sintéticos Semisintéticos
Por su utilidad	<ul style="list-style-type: none"> Comunes Enriquecidos Selectivos Diferenciales De transporte <ul style="list-style-type: none"> Especiales <ul style="list-style-type: none"> Animales de experimentación Huevos embrionados Cultivos celulares

Para el transporte de muestras donde se sospeche la existencia de virus, se utiliza un medio nutritivo suplementado con una fuente de proteínas, con la intención de estabilizar los virus frágiles y el agregado de antibióticos para reducir la contaminación bacteriana.

Cultivos anaeróbicos

Para el cultivo de las bacterias anaerobias deben utilizarse técnicas de siembra que no son radicalmente diferentes de las convencionales, pero existe una diferencia básica: todo el proceso debe efectuarse en ausencia de oxígeno, desde la selección, recolección y transporte adecuado de las muestras clínicas hasta los cultivos, ya que estos microorganismos pueden morir si son expuestos al oxígeno. La realización de algunos de los pasos en forma incorrecta puede conducir a resultados erróneos y proporcionar una información equivocada al profesional de la salud. Por eso, las siembras deben efectuarse de inmediato, en medios frescos o prerreducidos. Otros métodos de cultivo en anaerobiosis consisten en la siembra en profundidad en placa y la siembra en tubo con medio sólido o con medio líquido cubierto con una capa de vaselina para evitar el acceso del oxígeno o la siembra en medios esterilizados en forma aerobia prerreducidos (PRAS).

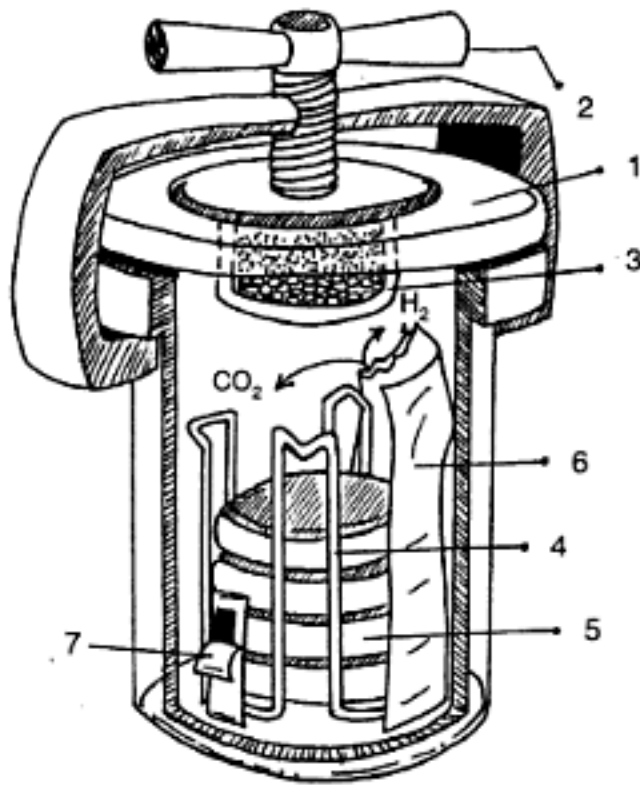


Fig. 31-14. Jarra de anaerobiosis. 1. Tapa. 2. Abrazadera con tornillos de cierre. 3. Soporte con catalizador. 4. Soporte para placas de Petri. 5. Placas de Petri. 6. Sobre con reactivo para anaerobiosis. 7. Indicador de anaerobiosis.

Si se desea conseguir condiciones de anaerobiosis más estrictas que las anteriores, para la incubación de bacterias anaerobias asociadas con enfermedades humanas existen diferentes sistemas, como por ejemplo: jarra de evacuación-reemplazo, jarras anaerobias con generador de gas desechable, cámaras anaerobias.

En las jarras de evacuación-reemplazo el aire es eliminado y reemplazado con una mezcla de 85% de nitrógeno, 10% de hidrógeno y 5% de dióxido de carbono. Son más económicas que los generadores de gas y permiten que la anaerobiosis se establezca más rápidamente.

En la jarra de anaerobiosis con generador de gas desechable (fig. 31-14) para lograr una atmósfera anaeróbica la técnica se basa en el empleo de un sobre comercial con dos tabletas, una de borohidrato sódico y otra de bicarbonato de sodio y ácido cítrico. Se colocan las placas y los tubos dentro del soporte en el interior de la jarra junto con el sobre, al que se le agrega 10 mL de agua y se procede al cierre hermético con la tapa donde se ubica el catalizador. La combinación del agua con las tabletas genera dióxido de carbono e hidrógeno; este último gas en presencia de paladio (catalizador) reacciona con el oxígeno, al cual consume, y produce agua.

La condición de anaerobiosis, independientemente del recipiente en la que se la genere, puede comprobarse mediante la introducción en la jarra de indicadores de anaerobiosis; éstos son tiras embebidas en azul de metileno oxidado o resazurina que se tornan incoloros al desaparecer el oxígeno.

Actualmente se dispone del sistema de bolsa plástica anaerobia, que consiste en una bolsa de plástico transparente (de diferentes tamaños con capacidad para una a tres placas de Petri), un generador de gas H_2-CO_2 que produce una atmósfera reductora cuando se le agrega agua, análoga a la jarra de anaerobiosis con generador de gas desechable y un sistema indicador que emplea resazurina. Estos sistemas de bolsas anaerobias parecen ser alternativas prácticas a las jarras o a los sistemas de cámara de anaerobiosis cuando se incuban unas pocas placas.

Una cámara de anaerobiosis es un sistema anaerobio completo que permite procesar muestras y realizar el aislamiento y la identificación de bacterias anaerobias, sin exposición al aire. Pueden estar construidas de variados materiales, como acero, plástico acrílico o fibra de vidrio. Es económica para operar, porque permite el uso del medio en placas convencionales y el costo de los gases es mínimo. La mezcla gaseosa empleada para reemplazar el aire ambiente contiene un 85% de nitrógeno, 10% de hidrógeno y 5% de dióxido de carbono.

Las bacterias que requieren concentraciones de dióxido de carbono distintas a la atmosférica, llamadas capnófilas, pueden incubarse con un simple frasco con vela. Las placas y los tubos sembrados se colocan en el frasco, se enciende la vela y se cierra. La vela reduce la concentración de oxígeno hasta un punto en que la llama se apaga. Esto proporciona una atmósfera con una concentración cercana al 3% de CO₂. Actualmente los frascos con velas están siendo reemplazados por sobre con sustancias químicas que generan atmósferas de CO₂. Muchos laboratorios han suplantado estos procedimientos por estufas de dióxido de carbono que mantienen esta atmósfera por medio de controles electrónicos.

Cultivo para hongos

Cualquiera de los medios para cultivo de hongos es adecuado para su uso en el laboratorio clínico, ya que la mayoría permite la recuperación de estos microorganismos. Para el aislamiento primario de éstos en muestras clínicas de rutina debe emplearse un medio selectivo y otro no selectivo.

Idealmente, las baterías utilizadas para su aislamiento deben reunir las siguientes recomendaciones:

- Medios enriquecidos.
- Medios con y sin el agregado de sangre.
- Medios con y sin cicloheximida.
- Medios con y sin el agregado de agentes antibacterianos.

El uso de medios enriquecidos, como es el agar SABHI (combinación de agar dextrosa de Sabouraud con infusión cerebro-corazón), se utiliza para el aislamiento primario de hongos saprófitos y patógenos, como por ejemplo los dermatófitos.

Para el aislamiento óptimo de algunas especies con requerimientos nutricionales especiales, como el *Histoplasma capsulatum*, se recomiendan medios de cultivo con el agregado de 5-10% de sangre de carnero.

Para evitar el sobredesarrollo de ciertos hongos filamentosos ambientales de crecimiento rápido, que pueden contaminar la mayoría de las muestras clínicas, se adiciona a los medios: cicloheximida; sin embargo, no debe dejar de incluirse, como parte de la batería de diagnóstico, placas sin el agregado de cicloheximida, ya que ciertos patógenos son inhibidos total o parcialmente por ésta, como por ejemplo: *Cryptococcus neoformans*, *Candida krusei* y algunas especies de *Aspergillus*.

Como ya se mencionó, las muestras clínicas pueden estar contaminadas con bacterias, para lo cual deben usarse medios con el agregado de uno

o más antibióticos, como penicilina, estreptomina, gentamicina o cloranfenicol. Existe el agar mycosel que contiene ambos inhibidores y está especialmente indicado para el aislamiento primario de dermatófitos.

La identificación es diferente cuando se trata de hongos filamentosos o levaduriformes; en los primeros su tipificación se basa en las características de las colonias (textura, color y velocidad del crecimiento) y el aspecto de las esporas que puedan formarse. Esta identificación es lenta; porque para estudiar las estructuras del hongo se necesita tiempo para su producción.

La identificación de los hongos levaduriformes se basa en el estudio de las características morfológicas macroscópicas y microscópicas obtenidas en el cultivo junto con los patrones bioquímicos de asimilación de azúcares. Estos métodos requieren uno o más días para su correcta interpretación, porque emplean colonias previamente aisladas que retrasan esta identificación. En los últimos años se ha facilitado el estudio de las levaduras, sobre todo las de mayor relevancia clínica, favoreciendo la detección de infecciones mixtas, debido a la introducción de medios de cultivos cromógenos que permiten el aislamiento y la identificación presuntiva simultánea al generarse colonias con diferentes colores y texturas para las distintas especies. Existen diversas marcas comerciales, como por ejemplo: Albicans ID® y Candida ID® –bioMérieux, Francia–, CHROMagar Candida® –CHROMagar Company, Francia–, etc.

Cultivos celulares

Algunas bacterias nunca han podido ser cultivadas en los medios artificiales de laboratorio; es el caso del bacilo de la lepra (*Mycobacterium leprae*) o la espiroqueta que causa la sífilis (*Treponema pallidum*), aunque ciertas cepas no patógenas de este género crecen en medios de cultivo microbiológicos. Con algunas excepciones, las bacterias intracelulares obligadas, como las rickettsias y las clamidias, tampoco proliferan en medios artificiales; del mismo modo los virus, sólo pueden crecer en animales de experimentación, huevos embrionados o células vivas susceptibles de cultivos de tejidos.

La inoculación en animales de laboratorio es el método más antiguo para aislar y conservar virus. Los animales utilizados generalmente son ratones lactantes o adultos, cobayos, conejos y en algunos casos primates. Sin embargo, debido al alto costo de mantenimiento, a la complejidad de las instalaciones necesarias (biotérios), al riesgo que implica la manipulación de animales infectados y a la pre-

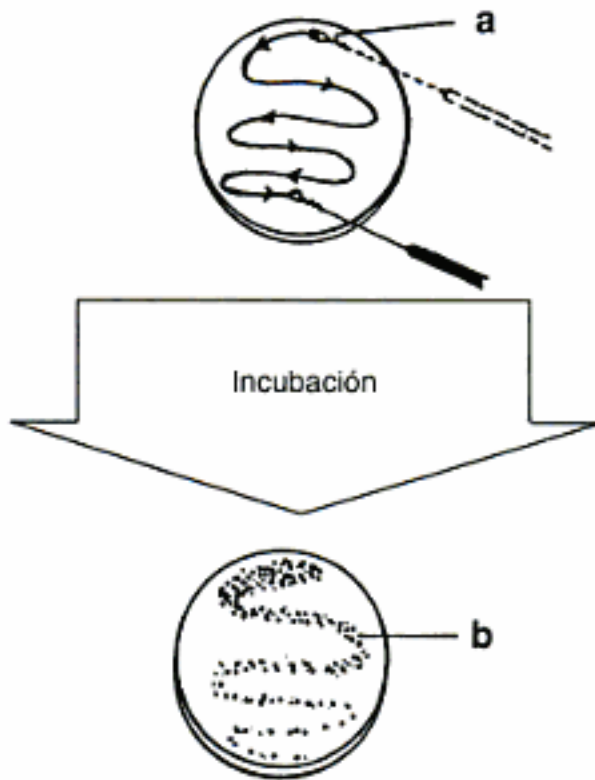


Fig. 31-15. Siembra por agotamiento por estrías. **a.** Siembra con asa. **b.** Desarrollo.

depositan los microorganismos su multiplicación, la que se traduce en la formación de una masa macroscópicamente visible denominada **colonia**, que es un clon procedente de un mismo germen y a partir de la cual es posible realizar el aislamiento y el trasplante.

Aislamiento

Al sembrar el material proveniente de una muestra clínica por lo general se obtiene un cultivo mixto (que contiene más de una clase de gérmenes), del cual es imprescindible separar los distintos tipos de colonias para obtener **cultivos puros o axénicos**, porque los cultivos mixtos proporcionan información de poca utilidad e incluso errónea.

Sólo los cultivos puros permiten realizar estudios sobre las propiedades bioquímicas (pruebas de identificación o tipificación) y la sensibilidad a los antimicrobianos selectivos (antibiograma) (véase cap. 31-5).

Existen varias técnicas de aislamiento; las más utilizadas siempre se basan en el empleo de un medio de cultivo sólido, en el cual los microorganismos dan origen a colonias separadas. Como cada colonia procede de una sola célula, cuando se tiene un inóculo medido, se habla de unidades formadoras de colonias (UFC).

Los métodos de aislamiento más frecuentes son:

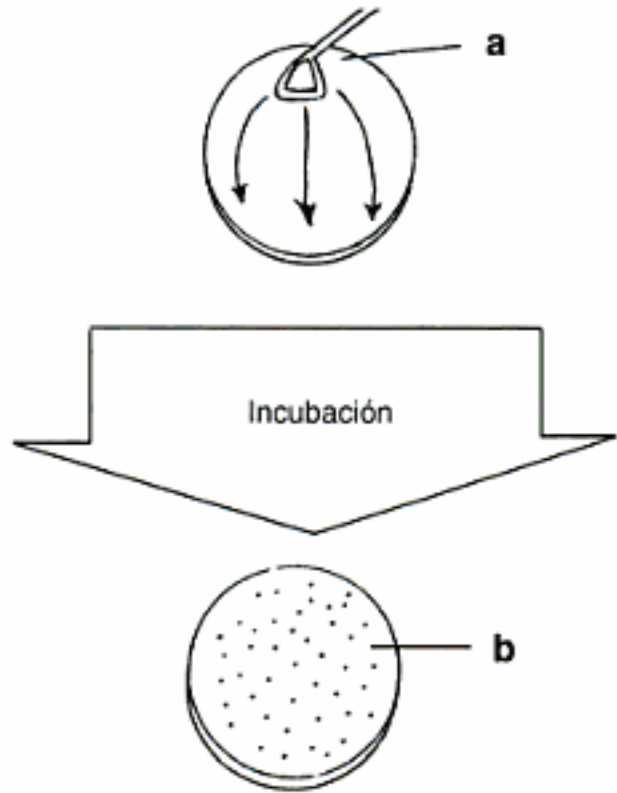


Fig. 31-16. Siembra por disseminación en superficie. **a.** Siembra con espátula de Drigalsky. **b.** Desarrollo.

- Siembra por agotamiento por estrías.
- Siembra por disseminación en superficie.
- Siembra de diluciones seriadas.

Siembra por agotamiento por estrías. Se trata de un método rápido y simple de agotamiento progresivo y continuo del inóculo (material microbiano utilizado para sembrar un medio de cultivo) sobre un medio sólido contenido en una cápsula de Petri. A medida que se realizan estrías las bacterias pasan del asa al medio en un número cada vez menor, de manera que las estrías iniciales proporcionan un crecimiento confluyente, mientras que a lo largo de las últimas estrías se desarrollan colonias bien aisladas (fig. 31-15).

Siembra por disseminación en superficie. Este método consiste en colocar 0,005 mL (una gota) del inóculo en el centro de una placa de Petri con medio de cultivo. Se extiende con espátula de Drigalsky hacia adelante y atrás, mientras se hace girar la placa, se tapa, se invierte la placa y se lleva a incubar (fig. 31-16).

Siembra de diluciones seriadas. Este método consiste en realizar diluciones sucesivas de la muestra con el objeto de sembrar después cantidades conocidas de esas diluciones en cápsulas de Petri (fig. 31-17). Esto permite conocer el número de microorganismos viables. La **viabilidad** en microbiología se define como la capacidad del microorganismo para multiplicarse en un medio de cultivo.

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD IN VITRO A LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

Susana Molgantini y María del Carmen Manto

Contenidos

Antibiogramas. Método de dilución en caldo. Método de difusión en agar. Prueba epsilométrica o E-test (A B Biodisk Suecia). Método de dilución en agar. Pruebas especiales.

Objetivos

- Definir qué es un antibiograma y mencionar en qué casos debe realizarse.
- Citar cuáles son las principales pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos.
- Explicar qué son la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM).
- Describir cómo se interpreta un antibiograma por difusión en agar.
- Enunciar las principales causas de fallas en las técnicas de antibiograma.
- Enumerar qué conducta debe seguirse en casos de infecciones severas.
- Explicar en qué casos se utilizan las pruebas especiales.

Una de las tareas del laboratorio de microbiología clínica es la realización de los exámenes de sensibilidad a los antimicrobianos de los microorganismos aislados. Estas pruebas deben ser realizadas para todo patógeno cuya sensibilidad sea desconocida pese a su identificación, o bien, en los casos en que pertenezca a cepas de conocida resistencia a los antimicrobianos, por ejemplo *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas spp* o enterobacterias. La meta de estos exámenes consiste en lograr, a través de la evaluación in vitro, la probabilidad de tratar con éxito las infecciones mediante el empleo de un agente antimicrobiano en particular y prevenir posibles resistencias. También son útiles para realizar estudios epidemiológicos que permitan detectar la posible emergencia de patógenos resistentes.

Es importante recalcar que las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos están pensadas para ser una ayuda para el profesional de la salud y no como garantía de que estas sustancias serán infalibles para el tratamiento, debido a que los factores que determinan el resultado final de un proceso infeccioso son complejos y en muchos casos sólo

se tienen en cuenta en forma parcial por las pruebas in vitro.

ANTIBIOGRAMAS

Los antibiogramas son estudios que se realizan in vitro y nos permiten determinar la resistencia o el grado de sensibilidad de los microorganismos frente a los diferentes antimicrobianos; en lo posible tratan de reproducir las condiciones en que se encuentra el agente infeccioso dentro de los tejidos o los líquidos orgánicos.

En la actualidad, no se justifica implementar tratamiento con antimicrobianos selectivos en ausencia de un diagnóstico clínico y de estudios bacteriológicos previos, excepto que se trate de infecciones agudas de origen desconocido que requieran un tratamiento de emergencia, porque amenazan la vida del paciente. En esos casos, puede suministrarse un antimicrobiano selectivo en forma empírica hasta que se obtenga el resultado del antibiograma, que nos indicará si debe continuarse o no con el antimicrobiano elegido.

El antibiograma es necesario en las siguientes situaciones:

1. Cuando no se puede prever o se desconoce la sensibilidad a los antimicrobianos de uso frecuente de un microorganismo aislado, como por ejemplo: gramnegativos fermentativos y no fermentativos, *Staphylococcus aureus*, algunos anaerobios, patógenos oportunistas inusuales, algunos neumococos, etcétera.
2. Como vigilancia epidemiológica, para detectar la emergencia de patógenos resistentes e informar sobre la evolución de las resistencias conocidas.
3. En infecciones microbianas graves que comprometen seriamente la vida del paciente, como por ejemplo endocarditis, absceso cerebral, septicemia, meningitis, entre otras.
4. Cuando el cuadro clínico no responde al tratamiento antimicrobiano clásico para esa enfermedad. En este caso, es conveniente suspender el tratamiento al menos 72 horas antes de tomar la muestra y siempre que el cuadro clínico lo permita.

En cambio, el antibiograma no es necesario cuando:

1. Se trata de microorganismos en los que no se han informado resistencias microbianas.
2. Se trata de gérmenes que han conservado su susceptibilidad a un antimicrobiano selectivo, tales como gonococos, *Streptococcus pyogenes* (estreptococo β hemolítico del grupo A), *Streptococcus agalactiae* o especies de *Actinomyces*.
3. El cultivo del microorganismo presenta demasiadas dificultades técnicas, como es el caso del *Treponema pallidum*.

Pueden emplearse diferentes pruebas de sensibilidad para determinar qué antimicrobiano selectivo es el más eficaz para combatir un determinado agente patógeno.

Los métodos más conocidos de antibiogramas para bacterias, en general, son: 1) dilución en caldo, 2) difusión en agar y 3) dilución en agar. Los más utilizados son los dos primeros. El método de dilución en caldo es el más exacto y el que posee mayor valor clínico, pero también es complicado, costoso y prolongado; por estos motivos sólo se lo usa para casos especiales. El método de difusión en agar no es tan exacto como el anterior pero resulta menos costoso, más práctico, sencillo y satisfactorio para la práctica clínica. El tercer método (dilución en agar) se utiliza poco, porque es lento y costoso; además, no permite el desarrollo de todos los microorganismos para poder estudiarlos.

Método de dilución en caldo

Esta prueba de sensibilidad en caldo puede realizarse en tubo (macrométodo) o en microplaca (micrométodo); este método alcanzó gran difusión debido a su mecanización y comercialización.

Puede utilizárselo cuando:

- No se observa una adecuada evolución clínica, pese haber indicado el antimicrobiano de acuerdo con los resultados del antibiograma por difusión.
- Debe realizarse el tratamiento con antimicrobianos selectivos potencialmente tóxicos, por lo que debe conocerse bien la dosis a utilizar.

Se trata de un método cuantitativo, considerado de referencia, que permite determinar la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima (véanse más adelante CIM y CBM).

Técnica

Se recurre a tablas indicadoras para conocer el solvente, el diluyente apropiado para cada antimicrobiano selectivo y las diluciones que se van a utilizar.

- Se prepara una suspensión del germen problema procedente de un cultivo de no más de 24 horas (fig. 31-18 a). Se ajusta esa suspensión con el 0,5 de la escala turbidimétrica de Mc Farland equivalente a 10^8 UFC por mL (fig. 31-18 b).*
- Se realiza una dilución posterior 1:100 para obtener una concentración de 10^6 UFC/mL (fig. 31-18 c).

Se realizan diluciones seriadas del antimicrobiano a probar, desde 100 $\mu\text{g/mL}$ hasta 0,4 $\mu\text{g/mL}$ en una serie de diez tubos que contengan igual cantidad de caldo Müller-Hinton. El tubo número 10 no posee antibiótico y sirve como control de crecimiento (T) (fig. 31-18 d).

- Se agrega 1 mL de la suspensión microbiana con 10^6 UFC/mL a la serie de diez tubos y se incuba a 37 °C durante 18 horas.

* La escala se confecciona con soluciones químicas (sulfato de bario y ácido sulfúrico) que proporcionan una turbidez equivalente a la que brindarían los microorganismos. Comparar la suspensión del germen problema con la escala permite estimar el número de UFC/mL, dado que la luz absorbida por la suspensión microbiana es directamente proporcional a la concentración de microorganismos presentes en la muestra.

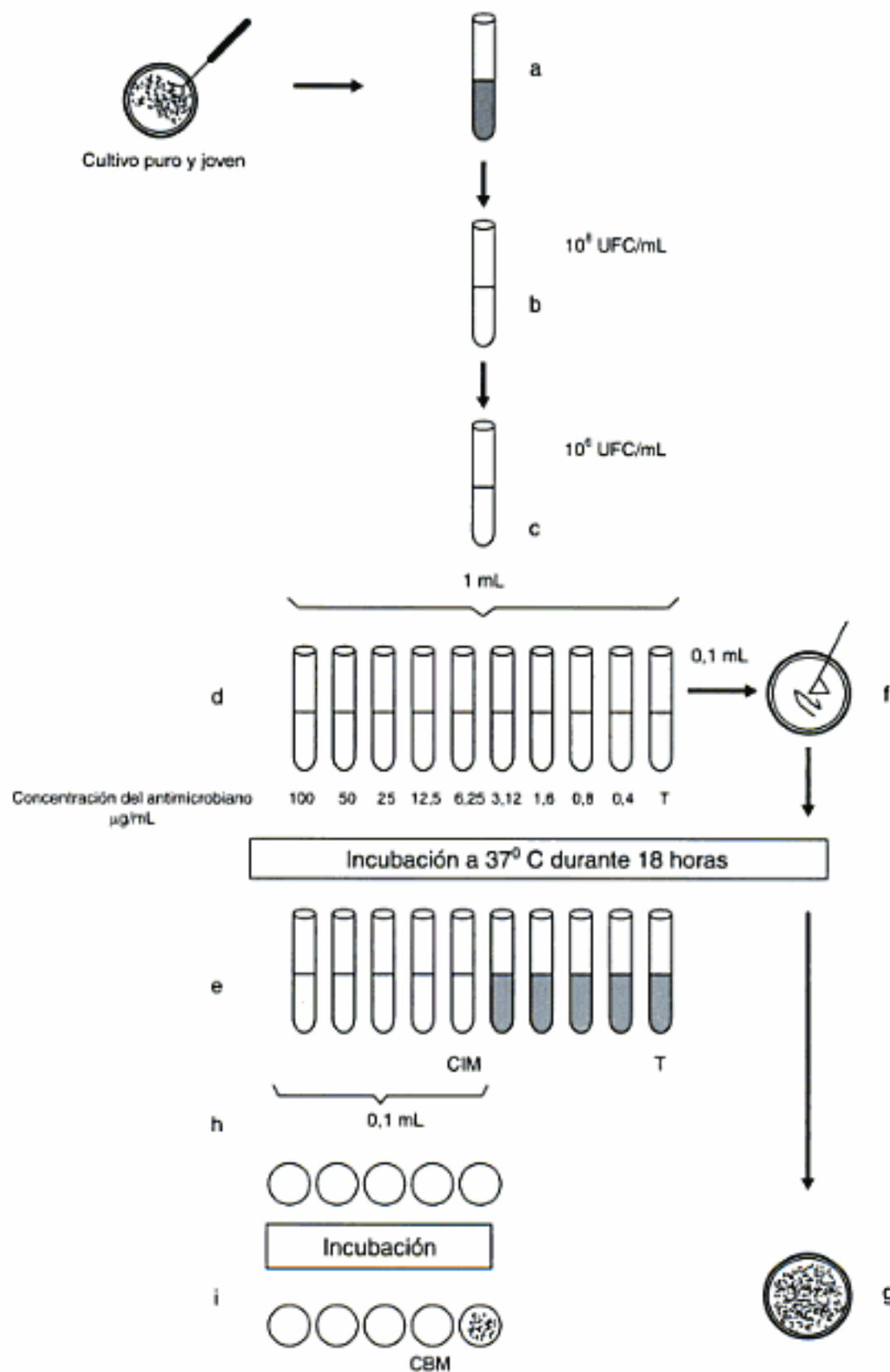


Fig. 31-18. Técnica de dilución en caldo.

- Una vez transcurrido dicho lapso se procede a la observación a simple vista de los tubos y a la interpretación de los resultados obtenidos:

Primero se observa el tubo testigo (último tubo de la serie) que debe tener desarrollo bacteriano (turbidez), ya que sólo contiene caldo nutritivo y la suspensión de microorganismos. Luego se observa cuál es el primer tubo de la serie que presenta turbidez, en nuestro ejemplo el tubo N° 6 que equivale a 3,12 µg/mL de antimicrobiano.

El tubo anterior a éste (último tubo de la serie que no presenta turbidez: N° 5 que equivale a 6,25 µg/mL de antimicrobiano) es el que corresponde a la **concentración inhibitoria mínima (CIM)** (fig. 31-18 e). Ésta se define como la menor cantidad del antimicrobiano capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo y generalmente se expresa en µg/mL. En consecuencia, los microorganismos presentes en el inóculo sólo pueden ser inhibidos por el antimicrobiano; si se eliminara la acción de éste, los gérmenes volverían a desarrollar.

Normalmente la CIM es suficiente para establecer la concentración del antimicrobiano necesario para controlar una infección y permitir que el sistema inmune del paciente sea el encargado de delimitar y eliminar al agente invasor.

En infecciones graves como la endocarditis infecciosa, la meningitis o la osteomielitis y en aquellos casos en los cuales el sistema inmune del paciente no es capaz de combatir la infección, puede ser importante determinar la capacidad de un antimicrobiano para destruir al microorganismo. Para ello debe determinarse la **concentración bactericida mínima (CBM)**; la que no constituye un método de rutina.

- Se toma un inóculo de 0,1 ml del tubo testigo (T) inmediatamente después de ser sembrado y se lo disemina con espátula de Drigalsky sobre una placa con agar Müller-Hinton (fig. 31-18 f). Se incuba durante 18 horas.
- Transcurrido dicho tiempo, puede determinarse el número real de UFC del inóculo (fig. 31-18 g). Para obtener un resultado con precisión estadística suficiente se aplica la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de colonias obtenidas} \times \text{el factor de dilución}}{\text{mL sembrados en la placa}}$$

- De cada uno de los tubos con caldo que no presentaron turbidez luego de la incubación, se siembra 0,1 mL en placas con agar Müller-Hinton (la pequeña cantidad de antimicrobiano selectivo que es llevada junto con el inóculo se considera despreciable por su difusión en el agar) (fig. 31-18 h). Se incuba durante 18 horas.

- Se realiza el recuento del número de colonias que desarrollaron en los subcultivos y se aplica el cálculo anterior para obtener el número de UFC/mL y compararlo con el valor del cultivo original (fig. 31-18 i).

La menor concentración del agente antimicrobiano que permite sobrevivir a menos del 0,1% del inóculo original se denomina concentración bactericida mínima (CBM) o concentración letal mínima (CLM).

La desventaja de este método es que para cada sistema bacteria-antimicrobiano debe prepararse una serie completa de tubos, lo que torna laborioso probar varios antimicrobianos frente a cada cepa aislada de pacientes.

Los laboratorios clínicos con gran volumen de trabajo suelen utilizar aparatos especiales para leer la turbidez; estos aparatos pasan los datos a un programa de computación, el que proporciona la CIM en forma impresa.

Microdilución

Las pruebas de microdilución son similares a las anteriores, pero se realizan en microplacas de poliestireno y el inóculo se añade con micropipeta.

Debido al escaso volumen del medio empleado, las microplacas deben ser protegidas de la deshidratación por medio del sellado con una cinta plástica y su incubación debe llevarse a cabo en cámara húmeda.

Los resultados se miden al observar el fondo de los pocillos sobre un visor con espejo. La ausencia de crecimiento se observará como una claridad completa del pocillo o como un sedimento menor que el que aparece en el control.

Es importante realizar el control de calidad de este método (ya que pueden darse discrepancias con los convencionales); para ello se emplean cepas bacterianas estándar, cuya CIM sea conocida. El NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) recomienda la prueba de rutina con *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. faecalis*.

Existen numerosos equipos comerciales que permiten probar diversos antimicrobianos selectivos en una misma microplaca simultáneamente. En la actualidad, estos equipos están semiautomatizados y es por eso que se utilizan con frecuencia e incluyen un dispositivo descartable de plástico que permite inocular las noventa y seis microcubetas de una sola vez.

Las ventajas de este método consisten en que es sencillo, permite evaluar varios antimicrobianos selectivos en una misma microplaca, utiliza peque-

crobianos superiores a las habituales para obtener una respuesta terapéutica favorable, siempre y cuando no produzca efectos secundarios.

Como el tamaño de cada halo de inhibición depende de la sensibilidad de la cepa al antimicrobiano, de la velocidad de crecimiento del microorganismo, de la cantidad (carga) de antimicrobiano selectivo presente en el disco, de la capacidad para difundir en el medio, etc., un halo más grande no siempre indica mayor actividad antimicrobiana.

Daremos un ejemplo:

Cuando frente a un disco con 10 mg de ampicilina los estafilococos presentan un diámetro de halo igual o menor de 28 mm, el microorganismo se interpreta como **resistente**; mientras que el mismo microorganismo en contacto con 1 mg de oxacilina se considera **resistente** cuando el diámetro del halo es de 10 mm.

No es válido establecer el grado de sensibilidad por la comparación de los halos de diversos antimicrobianos selectivos entre sí, sino que debe hacerse por el diámetro producido por cada uno, según una tabla en la que se tienen en cuenta los factores mencionados. Estas tablas son provistas por los laboratorios de referencia o acompañan a los equipos comerciales de antibiograma.

Es imperioso tener en cuenta estas circunstancias para iniciar, continuar o modificar un tratamiento.

Deben añadirse cepas de colección ATCC (*American Type Culture Collection*), como control de calidad, cuyos halos de inhibición son conocidos; las cepas recomendadas son *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Las **limitaciones** de este método consisten en que:

- Sólo puede usarse para microorganismos aerobios de crecimiento rápido.
- No pueden probarse antimicrobianos para los que no se haya establecido el tamaño de la zona de inhibición.
- Determina sólo si un antimicrobiano es bacteriostático, es decir que proporciona únicamente la CIM y no la CBM.
- No puede modificarse la combinación de antimicrobianos selectivos. Esto significa que debe disponerse de una variedad de series de discos y que a veces se prueban antimicrobianos selectivos innecesarios; por eso se prefieren los discos aislados.
- No pueden apreciarse los diferentes grados de resistencia.

Resultados discordantes

El médico que ha prescrito la terapéutica sobre

la base del resultado de un antibiograma puede tropezar con un fracaso clínico. Las causas directas o indirectas de este fracaso pueden ser fallas del laboratorio o del profesional.

A continuación, se mencionarán algunas de ellas:

A) *Fallas del laboratorio:*

1. El germen investigado no es el patógeno.
2. El antibiograma no fue realizado con cultivos puros del agente etiológico (germen único).
3. La cantidad de inóculo por unidad de volumen no es la correcta (lo más común es que sea excesiva).
4. Se utilizó un medio de cultivo no apropiado, sin ajuste de pH o con un volumen inadecuado.
5. El almacenamiento de los discos se realizó a una temperatura incorrecta.
6. La cantidad de antimicrobiano selectivo que contiene cada disco no es la conveniente.
7. El tiempo de incubación se extendió innecesariamente, lo que puede determinar la destrucción del antimicrobiano selectivo y el posterior crecimiento de los microorganismos sobre los que se había ejercido un efecto bacteriostático.
8. El antibiograma se contaminó con otros microorganismos por técnicas defectuosas.

B) *Fallas del profesional:*

1. Obtención del material en pacientes bajo tratamiento antimicrobiano.
2. Muestra no adecuada, por ejemplo, envío de saliva. Los materiales deben ser obtenidos indefectiblemente del sitio donde se encuentra el proceso infeccioso propiamente dicho.
3. Pasos inadecuados en la técnica de recolección del material a analizar (véase cap. 27).
4. Demora en el envío de la muestra desde el momento de la toma hasta su remisión, lo que ocasiona modificaciones en la vitalidad del germen o permite la proliferación de otro microorganismo.
5. Remisión en condiciones no adecuadas (véase cap. 27).
6. No tener en cuenta la farmacodinámica y la farmacocinética de la droga utilizada.
7. Empleo de una dosis inadecuada de antimicrobiano selectivo.
8. Administración por tiempo insuficiente o por una vía incorrecta.
9. Foco infeccioso inaccesible al antimicrobiano porque se han formado defensas naturales (abs-

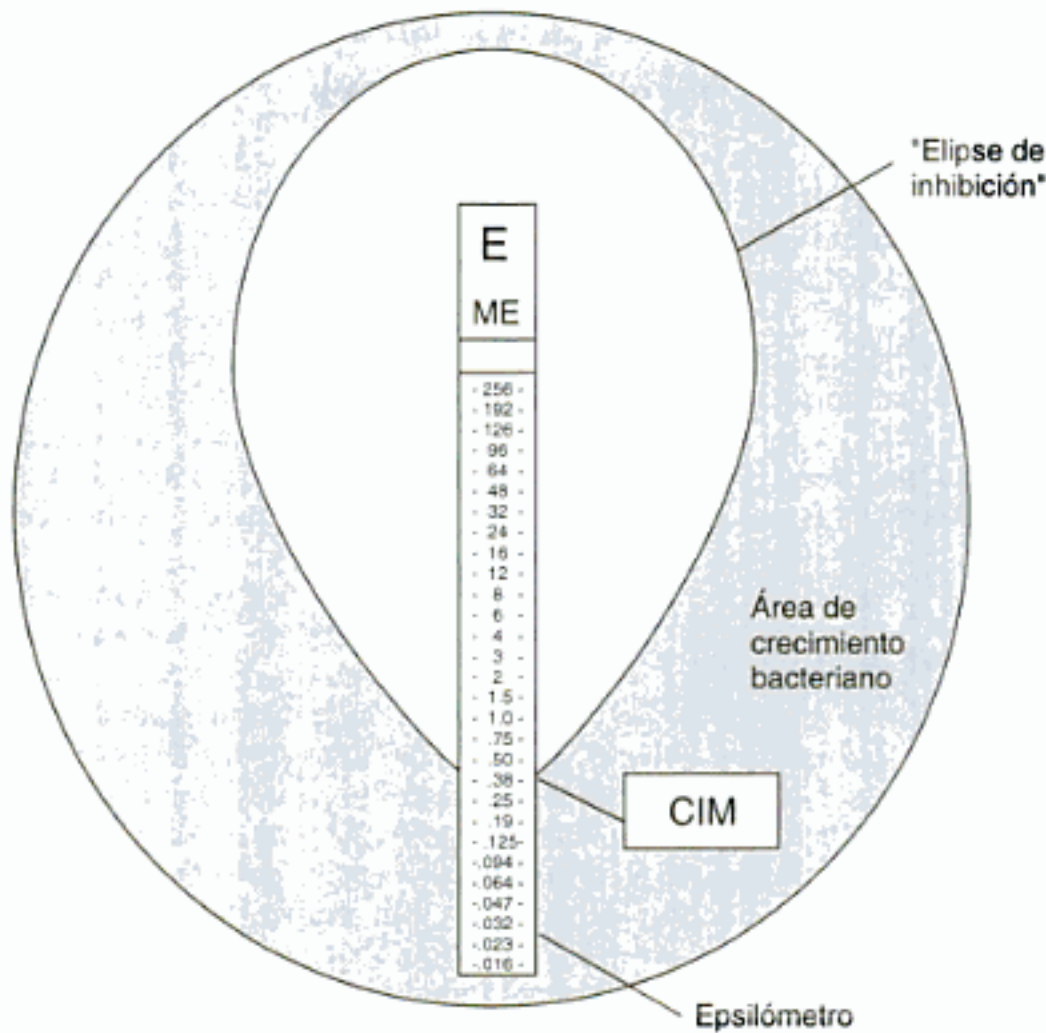


Fig. 31-20. Interpretación del E-test.

Desventajas

- El costo es elevado.
- La técnica es complicada e insume mucho tiempo y material, ya que requiere la preparación de distintas placas para cada antimicrobiano a evaluar.
- La mayoría de los laboratorios no pueden realizar este método en forma habitual.

Pruebas especiales

Las pruebas especiales se utilizan para microorganismos exigentes que requieren para su crecimiento medios suplementados, mayor tiempo de incubación o ambas cosas, como por ejemplo *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, meningococos, gonococos y neumococos. A continuación, se mencionarán someramente algunas de ellas.

Pruebas de sensibilidad a combinaciones de antimicrobianos selectivos

Para el tratamiento de algunas enfermedades infecciosas, como por ejemplo las endocarditis causadas por enterococos o por *Staphylococcus epidermidis* meticilinoresistentes o las infeccio-

nes graves causadas por bacterias gramnegativas, es preciso combinar dos antimicrobianos selectivos con efecto sinérgico; es decir, que el efecto que se alcanza con la unión de los dos antimicrobianos es mayor que la suma de los efectos observados con las drogas por separado. Existen determinadas técnicas que se realizan en laboratorios especializados que reúnen los datos para aconsejar esta asociación.

Pruebas para micobacterias

El tratamiento primario de la infección producida por micobacterias debe incluir combinaciones de dos o más agentes antimicrobianos. La realización de un antibiograma para medir la susceptibilidad del bacilo de Koch dio origen a numerosos métodos complejos que habitualmente se llevan a cabo en laboratorios especializados.

La OMS aconseja las técnicas de Meissner y de Mitchison, y el método de Canetti, Rist y Grosset. Este último, denominado “**método de determinación de susceptibilidad proporcional**”, constituye una variante de la dilución en agar. Debido a la necesidad de obtener resultados rápidos, actualmente se recomienda el uso de un sistema de prueba en

medio líquido, cuyos resultados son más precisos, confiables y se obtienen más rápidamente que las pruebas realizadas en medios sólidos. La mayoría de las pruebas utilizan el sistema radiométrico BACTEC. Los resultados pueden obtenerse a los 4 o 5 días, lo que es un tiempo considerablemente menor a las 3 o 7 semanas necesarias en las técnicas tradicionales.

En el caso de especies de micobacterias de crecimiento rápido es útil, como prueba de susceptibilidad, el E-test.

No desarrollaremos *in extenso* la metodología de estas técnicas debido a las características de esta obra.

Pruebas para detectar la producción de β -lactamasas

Las β -lactamasas son enzimas bacterianas que rompen el anillo beta-lactámico de las penicilinas y cefalosporinas e inactivan el antimicrobiano. Entre las especies bacterianas más frecuentes que producen esta enzima se encuentran: *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*. Para su determinación existen dos tipos de prueba: la cromogénica y la acidimétrica, las que permiten en minutos conocer la producción o no de esta enzima. La primera es la más sensible y específica de las dos. La ausencia de β -lactamasas indica que pueden suministrarse estas drogas; por el contrario, la positividad requiere la necesidad de cambiar el antimicrobiano.

Pruebas para determinar la sensibilidad de las bacterias anaerobias

Los patrones de sensibilidad antibiótica de las bacterias anaerobias son cambiantes y poco predecibles, especialmente entre algunas especies; esto impone la necesidad de contar con pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos tanto para conocer la evolución y los patrones locales como para el tratamiento de casos clínicos específicos.

Se aconseja realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos para:

- Determinar la actividad de nuevos agentes antimicrobianos.
- Monitorear periódicamente los patrones de sensibilidad.
- Contribuir al manejo de las **infecciones que comprometen la vida del paciente**:
 - a) por falta de respuesta al tratamiento empírico y persistencia de la infección;
 - b) cuando la evolución del paciente depende de la selección del antimicrobiano.

Consideraciones generales

En los laboratorios clínicos no existe un método completamente adecuado y fácil de implementar para realizar estas pruebas, cuyos principales inconvenientes consisten en falta de reproducibilidad, dificultad en la lectura del punto final o de corte y falta de concordancia entre los resultados de las distintas técnicas.

Es necesario tener en cuenta que el medio de cultivo utilizado debe permitir el desarrollo de los microorganismos más exigentes y que deben usarse cepas de referencia (ATCC) con el fin de controlar la calidad de los procedimientos y su estandarización.

Se han descrito varios métodos para probar la sensibilidad de las bacterias anaerobias, a saber: dilución en medio sólido, gradiente espiral, E-test, difusión de discos, macrodilución y microdilución en caldo, y la técnica de elución de disco en caldo, los cuales no se describirán con detalles debido a las características de esta obra y a que estas técnicas, generalmente, se utilizan en laboratorios especializados.

Sin embargo, es importante tener en cuenta algunas consideraciones generales: la técnica de elución de disco en caldo y la de difusión de disco en agar no deben ser usadas para las pruebas de anaerobios, a pesar de su conveniencia. La mayoría de los anaerobios crece demasiado lento como para trabajar con el método de la difusión del disco; los patrones de interpretación de Bauer y Kirby no fueron ideados para los gérmenes anaerobios y se carece de patrones de interpretación basados en medios y métodos estandarizados para las pruebas de difusión en disco; asimismo, hubo mala correlación entre las mediciones del tamaño de los halos de inhibición y los resultados provenientes de las pruebas de dilución de la CIM.

Como prueba de susceptibilidad rápida en los laboratorios generales, pueden utilizarse equipos comerciales como el ATB ANA, que consiste en quince pares de antimicrobianos en varias concentraciones.

Métodos para determinar la sensibilidad de los hongos

El estudio *in vitro* para determinar la sensibilidad de los hongos plantea varios inconvenientes que derivan de que:

1. Es preciso seleccionar un medio de cultivo especial y común para todos estos microorganismos sin que se produzcan interferencias para ninguno de ellos.
2. Hay que preparar una suspensión estándar de UFC a partir de los elementos de un hongo, lo que resul-

ta difícil porque están constituidos por células grandes, aunque es posible hacerlo con levaduras.

3. El tiempo de incubación varía, según la velocidad de crecimiento de cada especie.

En el caso de las levaduras, el estudio *in vitro* para determinar la sensibilidad de los hongos o antifungigrama, se ha logrado estandarizar y hacer reproducible.

El método de macrodilución y su modificación de microdilución sirven en la actualidad como estándares de referencia.

El E-test utilizando un medio estandarizado como RMPI 1640, con lectura final a las 48 horas entre otros factores de ajuste, también puede ser considerado como un método alternativo para las pruebas de sensibilidad de la mayoría de las especies de levaduras.

Existen equipos comerciales como el ATB HONGOS (consistente en doce antimicóticos en dos concentraciones) que se emplean como métodos rápidos en laboratorios generales.

Pruebas para determinar la sensibilidad de los virus

Las pruebas para determinar la resistencia de los virus aislados de los pacientes no se ejecutan como rutina en los laboratorios que trabajan habitualmente con cultivos celulares. Sin embargo, a medida que aumente la resistencia a los nuevos agentes antivirales, estas pruebas irán haciéndose cada vez más necesarias.

Pruebas para determinar la sensibilidad de los parásitos

A pesar de la importancia mundial de las enfermedades parasitarias y del creciente problema de su resistencia a las drogas, es poco lo que se sabe acerca de los mecanismos que las generan y son escasos los métodos estandarizados para realizar estudios de susceptibilidad sobre parásitos.

Preguntas de revisión

1. ¿Qué es un antibiograma y qué nos permite conocer?
2. Mencione tres casos en los que es necesario solicitar un antibiograma.
3. Enumere dos casos en los que no es necesario realizar un antibiograma.
4. ¿Qué puede determinarse a través del antibiograma por dilución en caldo?
5. ¿Qué es la CIM y cómo se determina por el método de dilución en caldo?
6. ¿Qué es la CBM y cómo se determina por el método de dilución en caldo?
7. ¿Qué elementos deben tenerse en cuenta en un antibiograma por difusión, de acuerdo con las normas del NCCLS?
8. Un antibiograma por difusión, ¿qué resultado puede arrojar y cómo se interpretan?
9. Mencione tres limitaciones del antibiograma por difusión en agar.
10. ¿Qué tipo de prueba es la epsilométrica o E-test y qué permite conocer?
11. Enumere cuatro fallas del laboratorio en casos de resultados discordantes.
12. Enumere cuatro fallas del profesional en casos de resultados discordantes.
13. ¿Qué conducta debe adoptarse en caso de infecciones severas?
14. ¿Qué importancia tiene y en qué casos debería utilizar las pruebas de detección de β -lactamasas?
15. ¿En qué casos se aconseja realizar las pruebas de sensibilidad para bacterias anaerobias?

Contenidos

Técnicas inmunológicas. Clasificación. Técnicas humorales. Técnicas celulares. Técnicas de biología molecular.

Objetivos

- Describir las diferencias entre las técnicas humorales y las celulares.
- Describir las características y la utilidad de las técnicas de precipitación.
- Describir las características y la utilidad de las técnicas de aglutinación.
- Describir las características y los tipos de técnicas de inmunomarcación.
- Describir la importancia clínica de la técnica de intradermorreacción.

Hacia fines del siglo XIX, a partir de sueros obtenidos de pacientes con distintas enfermedades, se describieron los fenómenos biológicos de precipitación, aglutinación, neutralización y otros que constituyen el fundamento de las diferentes pruebas inmunológicas.

Investigaciones posteriores permitieron el desarrollo de una importante cantidad de técnicas de enorme trascendencia en el diagnóstico de laboratorio de diversas enfermedades. En el campo terapéutico se obtuvieron una gran variedad de sueros (gammaglobulinas) y vacunas; entre ellas, las vacunas contra el tétanos y la difteria.

Las modificaciones posteriores en las técnicas inmunológicas tradicionales, así como la gestación de otras nuevas, extendieron su uso más allá de la microbiología. Así, diversas disciplinas se beneficiaron con ellas; a modo de ejemplo mencionaremos la endocrinología.

TÉCNICAS INMUNOLÓGICAS

Son procedimientos de laboratorio que permiten cualificar, o cuantificar una sustancia que cumple el papel de antígeno o al efector inmunológico que se formó en respuesta a dicha sustancia, sea éste un anticuerpo o un linfocito T efector.

Clasificación

Con un fin puramente didáctico y sobre la base de diferentes criterios es posible clasificar las distintas técnicas:

Humorales (también llamadas serológicas): son aquellas en las cuales el efector inmunológico que interacciona con el antígeno es un anticuerpo.

Celulares: cuando el efector es una célula, más concretamente un linfocito T efector.

In vitro: cuando la interacción antígeno-efector se lleva a cabo en un soporte de vidrio, por ejemplo en un tubo de ensayo.

In vivo: cuando la reacción antígeno-efector se produce en un ser vivo, sea éste humano o animal.

Cualitativa: en caso de que se detecte sólo la presencia de la incógnita, sea el antígeno o el efector.

Semicuantitativa: cuando la titulación (véase más adelante) se realiza en unidades relativas (diluciones).

Cuantitativa: cuando aparte de identificar la incógnita, ésta es cuantificada en unidades absolutas (sistema métrico decimal).

De diagnóstico directo: cuando la incógnita a demostrar es el antígeno.

De diagnóstico indirecto: si la incógnita a determinar es el efector inmunológico.

De lectura directa: cuando la reacción antígeno-efector da lugar a un fenómeno evidenciable por sí mismo.

De lectura indirecta: cuando la interacción antígeno-efector no es evidente por sí misma y es necesario agregar, por ejemplo, una sustancia fluorescente para ponerla en evidencia.

Método directo: cuando en la reacción participa un único anticuerpo.

Método indirecto: cuando en la reacción intervienen dos o más anticuerpos.

Técnicas humorales

En una técnica inmunológica humoral intervienen el antígeno y los anticuerpos. Éstos se unen al antígeno a través de sus dominios variables ubicados en las fracciones denominadas Fab. La mayor parte de los anticuerpos tienen dos fracciones Fab, de modo que poseen dos sitios de unión con el antígeno, por lo que se considera que los anticuerpos son **bivalentes** (véase cap. 15). Un caso particular es el de la IgM, que por ser de estructura pentamérica posee una valencia de diez, aunque por razones estéricas utilice habitualmente sólo cinco de ellas. En todos los casos un anticuerpo es monoespecífico, es decir que sus Fab están dirigidos a un único epítipo o determinante antigénico.

En cuanto al antígeno, es una molécula generalmente compleja. Los sitios o zonas de la molécula a las que va dirigida la respuesta se denominan **epítopes** o **determinantes antigénicos**. Cuando un antígeno posee un mismo determinante repetido n veces, decimos que es **multivalente**; si, en cambio, encontramos varios epítopes diferentes, lo llamamos **polivalente**. En este último caso es seguro que algunos determinantes serán más inmunogénicos que otros y ellos reciben el nombre de **inmunodominantes**; obviamente, éstos serán más importantes en la reacción antígeno-anticuerpo.

La unión antígeno-anticuerpo es no covalente y reversible. En forma esquemática podemos decir que entre ambos hay un encastramiento similar al de una llave y una cerradura. Las fuerzas que intervienen

en la unión son de tipo enlace de hidrógeno, electrostáticas (de Coulomb), hidrófobas y de Van der Waals.

Se define como **afinidad** a la fuerza de unión entre el Fab del anticuerpo y el epítipo del antígeno. En cambio, el término **avidéz** define la fuerza de unión resultante de la suma de todas las interacciones entre los diferentes epítopes del antígeno y sus correspondientes anticuerpos. Habitualmente la avidéz resulta mayor que la suma de las afinidades individuales.

La interacción inicial entre el antígeno y el anticuerpo se denomina **interacción primaria**, es rápida e independiente de factores como la temperatura y la concentración de electrolitos. Como esta interacción no es visible por sí misma, se han ideado diferentes métodos para hacerla evidente; por ejemplo, uniendo una sustancia fluorescente al anticuerpo, como veremos luego en la técnica de inmunofluorescencia.

La interacción primaria puede ser seguida por una interacción denominada **secundaria**. Ésta es más lenta y, como consecuencia de ella, puede generarse un fenómeno visible: tal es el caso de la precipitación y la aglutinación.

Si la reacción antígeno-anticuerpo se produce *in vivo*, pueden manifestarse fenómenos biológicos, tales como vasodilatación, edema, necrosis y otros que definimos con el nombre de **reacciones terciarias**.

Es común e importante que al hablar de una determinada técnica se haga referencia a su sensibilidad y especificidad; veamos qué significa cada uno de estos términos.

La **sensibilidad** es una medida que indica cuán eficaz es una técnica para poner de manifiesto pequeñas cantidades de la incógnita (ya sea un antígeno o un anticuerpo). Las diferencias en este sentido son significativas; así, la técnica de RIA (radioinmunoanálisis) es 5.000 veces más sensible que la de precipitación. Por ejemplo, si se trata de detectar en el suero de un paciente el virus de la hepatitis B, el cual puede encontrarse en escasa cantidad, es necesario utilizar una técnica muy

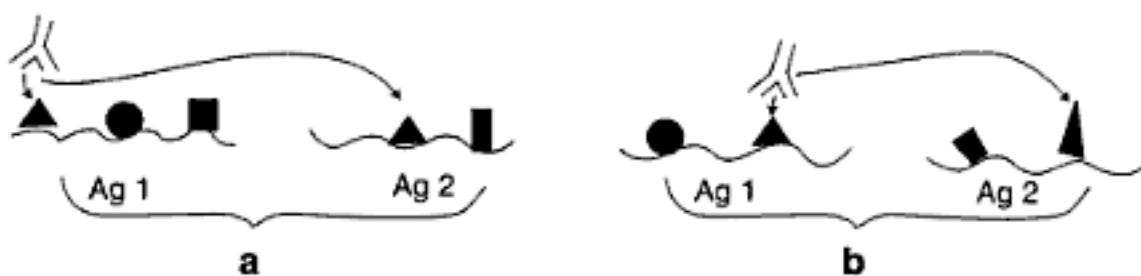


Fig. 31-21. Esquema de los fundamentos de las reacciones cruzadas. En **a** los antígenos 1 y 2 comparten el epítipo (triángulo equilátero). En **b** poseen un epítipo similar (triángulo equilátero e isósceles).

- Si el suero del paciente presenta anticuerpos, éstos se unirán al *Treponema* (fig. 31-38 B).
- Se incuba según corresponda y se lava.
- Se agrega un volumen constante de gammaglobulina de conejo (antigammaglobulina humana) marcada con fluorocromo (fig. 31-38 C).
- Si el paciente tiene anticuerpos específicos contra el *Treponema*, la antigammaglobulina humana marcada se unirá al inmunocomplejo formado (fig. 31-38 D).
- Se lava, se deja secar, se coloca una pequeña gota de líquido de montaje sobre cada frotis, se aplica un cubreobjetos y se procede a la lectura con microscopio de fluorescencia dentro de las 4 horas de realizada la técnica.

La reacción positiva permitirá observar los treponemas fluorescentes sobre un fondo negro (fig. 31-38 E). En ausencia de anticuerpos en el suero no se observa fluorescencia en el microscopio; sólo se visualiza un campo negro.

Esta prueba es reactiva en casi el 80% de los pacientes con sífilis primaria. Es especialmente útil para confirmar o descartar diagnóstico de sífilis en sujetos con reacciones que se sospechan como falsos positivos en la prueba de VDRL.

Otra variante es la técnica sándwich; éste es un procedimiento de doble capa diseñado para visualizar anticuerpos específicos. El nombre de esta prueba se debe a que el antígeno se ubica entre el anticuerpo presente en el sustrato de la célula y el que es agregado como segunda capa.

Otra variante de estas técnicas es la que agrega complemento a la reacción para aumentar su sensibilidad, pero no se describirán debido a las características de esta obra.

II. Enzimoimmunoensayo (EIA) o ensayo indirecto inmunoabsorbido ligado a enzimas (ELISA)

Esta técnica, que fue desarrollada por Engvall y Pesce (1978), es una de las más ampliamente utilizadas en la actualidad debido a su simplicidad, su rapidez, su bajo costo y su posibilidad de automatizar. Existen dos métodos básicos:

- Técnica sándwich de doble anticuerpo.
- Ensayo indirecto inmunoabsorbido ligado a enzimas.

II.1. TÉCNICA SÁNDWICH DE DOBLE ANTICUERPO

Como ejemplo, desarrollaremos la detección del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) (fig. 31-39).

Técnica

- En una placa de microtitulación con anticuerpo anti-HBs adsorbido se agrega suero del paciente (fig. 31-39 A), se incuba y se lava.
- Si el suero del paciente contiene el antígeno HBs, éste se unirá al anticuerpo adsorbido en el pocillo (fig. 31-39 B).
- Se efectúan varios lavados.
- Luego se añade un anticuerpo anti-antígeno HBs marcado con la enzima (fig. 31-39 C).
- Si ambos anticuerpos han reaccionado con el antígeno, se habrá formado un sándwich: Ac-Ag-Ac (fig. 31-39 D).

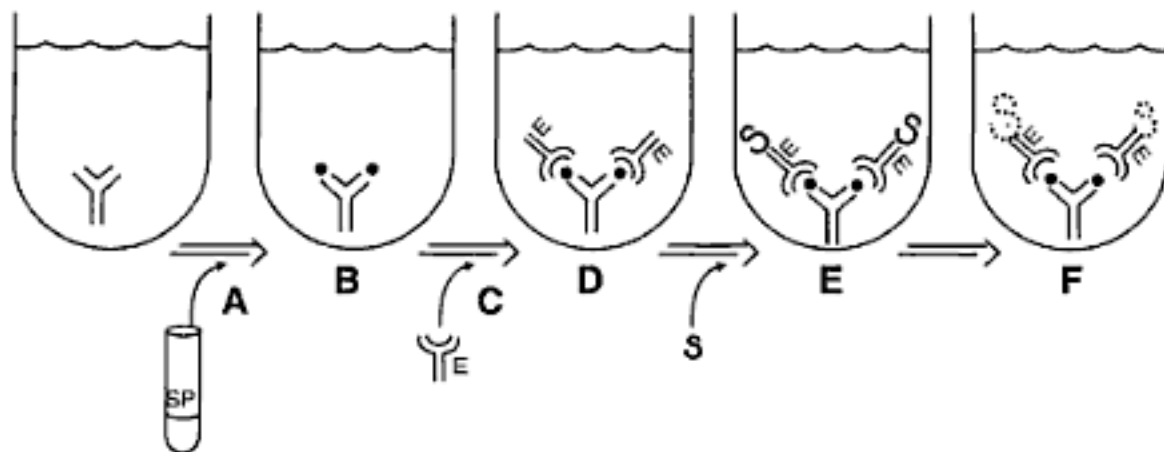


Fig. 31-39. Técnica ELISA sándwich de doble anticuerpo. SP: suero del paciente, Y: anticuerpo antiantígeno HBs, •: antígeno HBs, YE: anticuerpo anti-HBs marcado, S: sustrato.

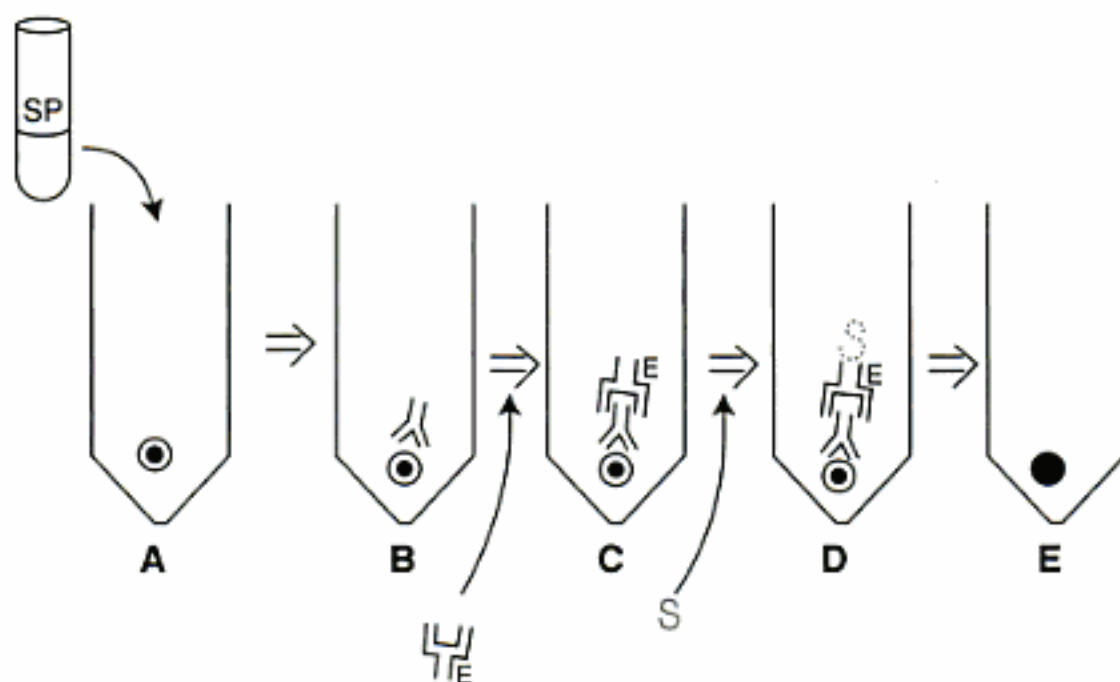


Fig. 31-40. Técnica del ensayo indirecto inmunoabsorbido (EIA): SP: suero del paciente, ●: zona con antígeno de HIV adsorbido, Y: anticuerpo anti-HIV del paciente, Y-E: gammaglobulina de conejo (anti-gammaglobulina humana marcada), S: sustrato.

- Se realizan varios lavados y se agrega el sustrato de la enzima; la actividad enzimática sobre el sustrato (fig. 31-39 E) se visualiza por un cambio de color que puede detectarse a simple vista o por medio de un espectrofotómetro (fig. 31-39 F).

II.2. ENSAYO INDIRECTO INMUNOADSORBIDO LIGADO A ENZIMAS (ELISA)

Utilizaremos, como ejemplo, la determinación de anticuerpos anti-HIV (fig. 31-40).

Técnica

- Sobre un soporte de plástico con antígeno-HIV adsorbido se coloca el suero del paciente (fig. 31-40 A).
- Si dicho suero contiene anticuerpos, éstos se unirán al antígeno (fig. 31-40 B).
- Se incuba y se lava.
- Se agrega una gammaglobulina de conejo (anti-gammaglobulina humana) marcada con la enzima que finalmente se unirá al anticuerpo del paciente (fig. 31-40 C).
- Se incuba y se lava.
- Se agrega la solución de sustrato; en este caso el sustrato no sólo modifica su color, por acción de la enzima, sino que además se precipita sobre la zona de la reacción antígeno-anticuerpo (fig. 31-40 D).
- Se lava, se deja secar y se observa.

La presencia de color en el soporte en la zona donde se encuentra adsorbido el antígeno indica una reacción positiva (fig. 31-40 E).

III. Radioinmunoanálisis (RIA)

Esta técnica fue desarrollada por Yalow y Berson en 1959 para la determinación de la insulina en suero. Su cualidad más importante es su extremada sensibilidad, que permite detectar cantidades pequeñísimas del antígeno o del anticuerpo. Entre sus desventajas mencionaremos las inherentes a la utilización de radioisótopos como sustancia marcadora.

En la actualidad esta técnica es aplicable no sólo para la determinación de una gran variedad de hormonas, sino también de cualquier otra molécula capaz de comportarse como antígeno, sea éste microbiano, tumoral, etcétera.

Una variante del RIA está dada por las técnicas basadas en el marcado con isótopos radiactivos, como las denominadas radioinmunométricas, cuyos pasos son similares a los del EIA.

A modo de ejemplo, explicaremos la determinación de IgE específica para la procaína (anestésico) (RAST/radioalergosorbent test) (fig. 31-41).

Técnica

- Se toma un disco de papel impregnado con procaína y se le agrega el suero del paciente (fig. 31-41 A).
- Si el paciente posee anticuerpos, éstos se unirán a la procaína (fig. 31-41 B).
- Se lava.
- Se agrega un anticuerpo anti-IgE (anti ϵ) marcado con el isótopo radiactivo. Si en el suero del paciente hubiera IgE, ésta se unirá al anticuerpo marcado (fig. 31-41 C).

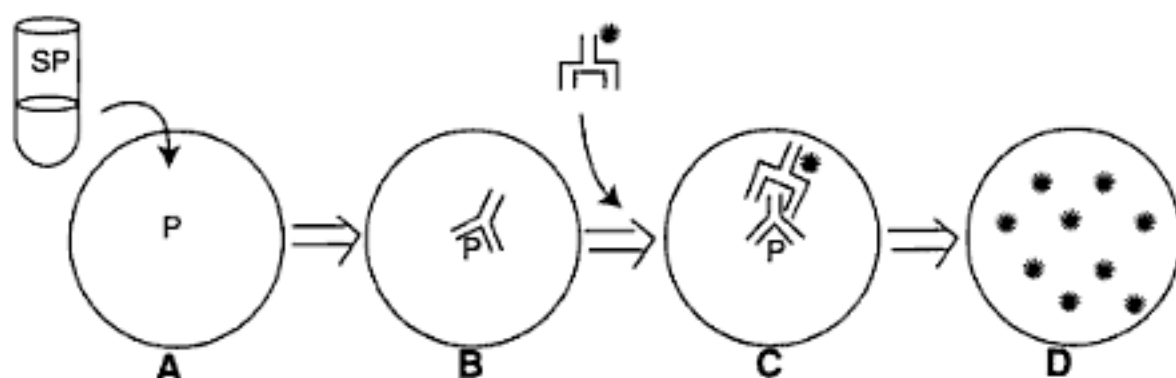


Fig. 31-41. RAST. SP: suero del paciente, P: procaína, Y: anticuerpo del paciente, Y*: gammaglobulina de conejo (anti-IgE marcada), *: elemento radiactivo.

- Se incuba y se lava.
- La presencia de radioactividad medida en un contador de centelleo nos indicará que el paciente posee anticuerpos IgE antiprocaína (fig. 31-41 D).

Neutralización

Las técnicas de neutralización fueron descritas por primera vez en 1890 cuando se observó que un suero inmune era capaz de neutralizar la toxina diftérica producida por el *Corynebacterium diphteriae*.

Estas técnicas se fundamentan en el bloqueo de una determinada actividad del antígeno por parte del anticuerpo. Para su lectura es necesario utilizar un sistema lábil a la acción del antígeno (lectura indirecta). Se trata de técnicas sensibles, cuya principal desventaja radica en la dificultad para disponer del sistema sensible al antígeno.

Esta prueba utiliza, como sistema de revelado, la unión antígeno-anticuerpo a un animal de laboratorio, a un cultivo celular o a huevos embrionados. Para ello, primero se incuba el suero problema, donde se buscan tanto anticuerpos neutralizantes como el antígeno (virus, bacterias, toxina, etcétera). Pueden ser clasificadas en:

1. Seroneutralización.
2. Seroprotección.
3. Inhibición de la hemoaglutinación.

1. Seroneutralización

A modo de ejemplo, desarrollaremos la titulación de anticuerpos antiestreptolisina "O", denominada ASTO o ALO (apócope de antiestreptolisina "O") (fig. 31-42).

Técnica

- En una serie de tubos se realiza la dilución del suero del paciente, en la forma habitual.
- Se agrega a cada tubo una cantidad constante de estreptolisina "O" (hemolisina producida principalmente por los estreptococos β -hemolíticos del grupo A) (fig. 31-42 A).
- Se incuba.
- Si el anticuerpo está presente, se combinará con la estreptolisina y la bloqueará (fig. 31-42 B).
- Se agrega a cada tubo una cantidad constante de una suspensión de glóbulos rojos grupo 0 Rh negativo (fig. 31-42 C).
- Se incuba.

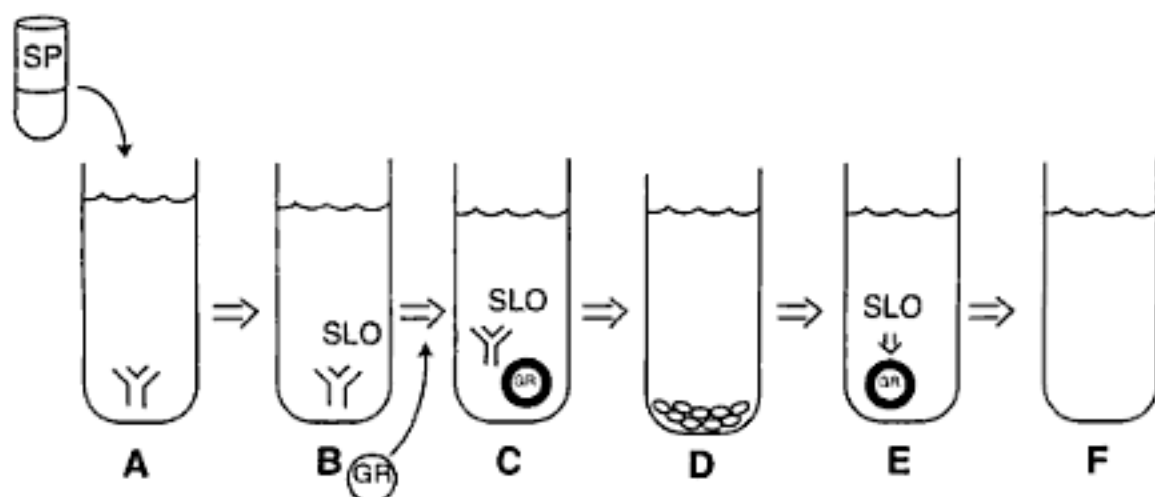


Fig. 31-42. Técnica de neutralización. Y: anticuerpo antiestreptolisina "O", SLO: estreptolisina "O", GR: glóbulos rojos.

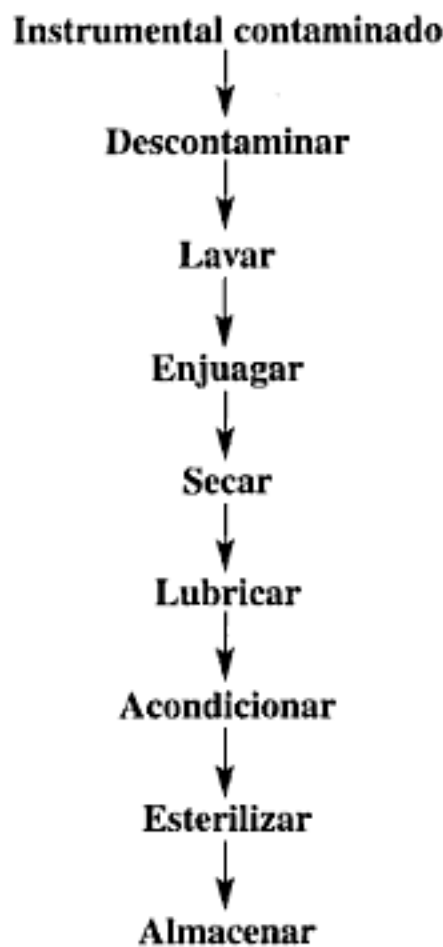


Fig. 31-44. Tratamiento de material e instrumental usados recuperables.

- Hipoclorito de sodio al 0,5%: a partir de agua lavandina concentrada (55 g Cl/L) en dilución acuosa 1:10 en la siguiente proporción: 9 partes de agua corriente y 1 parte de agua lavandina.
- Solución povidona yodo al 2,5%: a partir de una solución al 10% en dilución acuosa 1:4 en la siguiente proporción: 3 partes de agua y 1 parte de povidona yodo.

Es importante establecer una adecuada relación entre el volumen del desinfectante y la cantidad de instrumental, de manera que éste quede suelto y correctamente cubierto por la solución descontaminante.

El tiempo de contacto solución descontaminante-instrumental es de 10 minutos (OMS y ADA). No debe agregarse nunca instrumental durante el proceso de descontaminación.

Tratamiento con solución enzimática

Estas soluciones están elaboradas a partir de proteasas, amilasas o lipasas que con la sola inmersión desprenden la materia orgánica de la superficie del objeto, lo que facilita la descontaminación posterior, disminuye el tiempo de limpieza y evita el deterioro.

En algunas especialidades en las cuales hay un exceso de materia orgánica (p. ej., cirugía) se requiere tratar el instrumental con una solución enzimática antes de sumergirlo en el descontaminante, para evitar su inactivación y reducir el deterioro acumulativo que provoca la materia orgánica sobre los instrumentos.

En esos casos particulares debe prepararse solución enzimática (siguiendo las indicaciones del fabricante) en un recipiente plástico, con tapa, sumergir el instrumental, tapar y dejar actuar durante 5 minutos.

Debe establecerse una adecuada relación entre el volumen de la solución enzimática, la cantidad de instrumental y la carga orgánica, de manera que el instrumental quede suelto y correctamente cubierto por la solución.

Transcurrido el tiempo de inmersión, retirar el instrumental y proceder a su descontaminación química. La solución enzimática antes de su eliminación debe ser desinfectada con el agregado de 100 mL de agua lavandina concentrada (55 g Cl/L) por cada 900 mL de solución enzimática.

2. Lavado

Su objetivo es eliminar residuos orgánicos o detritos. Puede ser realizado en forma manual, mecánica o ultrasónica.

Lavado manual

Para llevarla a cabo el operador debe utilizar un delantal impermeable, guantes resistentes (de uso doméstico), protección ocular y barbijo o mascarilla.

Los instrumentos cortantes o punzantes deben ser manipulados con mucho cuidado para prevenir lesiones en las manos. Además, los instrumentos que lo permitan deben ser totalmente desensamblados.

El lavado se realiza por medio del cepillado de la superficie de los instrumentos con cepillos blandos (no de metal) y detergentes líquidos. Para evitar la "aerolización" se la lleva a cabo bajo el chorro de agua. No es aconsejable usar jabón en pastilla, porque puede actuar como reservorio de microorganismos.

Las superficies no deben frotarse con polvos limpiadores domésticos abrasivos, lanas de acero, esponjas de metal, cepillos de alambre, etc., porque éstos rayan y dañan los metales, lo que aumenta las posibilidades de corrosión.

Después de utilizar los cepillos de limpieza debe desinfectárselos antes de volver a usar; para ello se los sumerge en hipoclorito de sodio al 0,5% durante 10 minutos.

Inconvenientes de la limpieza manual

- Requiere tiempo y personal adiestrado.
- Favorece los accidentes.
- No elimina la suciedad en zonas inaccesibles.
- Existe la probabilidad de diseminar microorganismos al cepillar.

Lavado mecánico

Hay máquinas lavadoras especialmente diseñadas para el lavado y la desinfección del instrumental y el material de vidrio. El proceso incluye los siguientes pasos: enjuague con agua fría, lavado con agua caliente y detergentes no iónicos, enjuague con agua caliente y secado. Este lavado muchas veces se complementa con la agitación vigorosa y chorros de aire y vapor. También se comercializa un tipo de máquina lavadora y esterilizadora.

En todos los casos es preciso proceder a la limpieza y a la desinfección diarias de la máquina.

Lavado con ultrasonido

La limpieza por ondas ultrasónicas se produce por el fenómeno de cavitación; en este sistema la energía eléctrica es transformada en ondas oscilatorias de alta frecuencia y transmitida al líquido por transductores ubicados debajo del recipiente (véase cap. 13).

Para que la limpieza ultrasónica sea eficaz deben tenerse en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Utilizar guantes resistentes durante la carga y retiro del instrumental.
- No sobrecargar la cubeta.
- Seleccionar un líquido de limpieza adecuado.
- Mantener la tapa correctamente cerrada durante todo el proceso.
- Los instrumentos deben quedar espaciados entre sí, para evitar el contacto. Por otra parte, los de gran tamaño no deben producir sombra sobre los más pequeños.
- Los instrumentos con partes desmontables deben separarse y los articulados deben estar abiertos.
- No hay que mezclar instrumentos de diferentes metales, ni metal con plástico, gomas o PVC (cloruro de polivinilo).
- La temperatura del agua debe estar a 55 °C como máximo, porque si no se formarían burbujas de vapor en lugar de microburbujas. Además, una temperatura mayor favorecería la coagulación de las proteínas.

- La duración del proceso, que debe ser la indicada por las instrucciones del fabricante, puede variar entre 5 y 10 minutos. Aumentar los tiempos no favorece la limpieza, dado que la suciedad tiende a depositarse nuevamente.
- La limpieza con ultrasonido es superior a la manual debido a las ventajas que posee.

Ventajas de la limpieza ultrasónica

- Mayor eficacia en la limpieza.
- Menor riesgo de aerosolización de partículas infecciosas durante el cepillado.
- Menor incidencia de lesiones.
- Reducción del trabajo manual.
- Ahorro de tiempo.

3. Enjuague

El enjuague debe ser lo más minucioso posible para eliminar el detergente empleado y los residuos.

En este paso es importante la calidad del agua, sobre todo en las zonas donde su composición presenta sales (aguas duras). Para evitar todo tipo de mancha el enjuague debe realizarse con agua totalmente desmineralizada, lo que se logra con equipos ablandadores de agua o con algunos más sofisticados como los destiladores que proveen agua destilada.

4. Secado

El secado se realiza para evitar la corrosión del instrumental metálico y las manchas. La humedad favorece la corrosión y el secado es el mejor método para prevenirla y conservar la capacidad de corte.

Puede efectuárselo por medio de aire caliente forzado o con la utilización de toallas de un solo uso. Las toallas de tela no son aconsejables, porque al mantenerse húmedas favorecen la multiplicación microbiana.

5. Lubricación

La lubricación consiste en aplicar productos lubricantes (no aceitosos) y protectores sobre la superficie del instrumental, especialmente en las cremalleras y las bisagras. Aceitar los instrumentos es sumamente peligroso, porque los aceites actúan como barrera de protección de los microorganismos al impedir que el vapor de agua esterilizante llegue a esos lugares; además, favorecen la acumulación de suciedad, sobre todo en el instru-

mental no desmontable. Antes de aplicar lubricantes y protectores debe verificarse que el producto seleccionado sea compatible con el método de esterilización que se utilizará.

6. Acondicionamiento

El objetivo del acondicionamiento es proteger los elementos esterilizados hasta el momento de su uso, para evitar su contaminación. Para tal fin se debe ser muy cuidadoso con la forma de envolverlo.

La envoltura debe elegirse sobre la base del material que va a acondicionarse y del proceso de esterilización al que se lo someterá.

Propiedades de un envoltorio

- Debe ser permeable al agente esterilizante.
- Debe ser resistente a la penetración de microorganismos y a la ruptura.
- No debe desprender partículas ni compuestos químicos que puedan contaminar los elementos que se van a esterilizar.
- No debe reaccionar con el agente esterilizante ni con el material a empaquetar.
- Los envoltorios para acondicionar material que se esterilizan por vapor húmedo y calor seco se enumeran en el cuadro 31-5.

A continuación, describiremos las características del material de envoltura que más se utiliza en la práctica odontológica diaria.

Cuadro 31-5. Envoltorios adecuados según el proceso de esterilización seleccionado

Proceso	Material de envoltura
Esterilización por vapor húmedo	Papel Kraft blanco puro IRAM 3106 Tela de algodón Papel Kraft medicinal SB 6256 Papel ventana (pouche de polipropileno) Cajas de metal perforadas con filtro Recipientes de vidrio
Esterilización por calor seco	Cajas de metal Material de vidrio tipo Pyrex Hojas delgadas de aluminio Nailon (poliamida) Papel Kraft blanco puro IRAM 3106 Papel Kraft medicinal SB 6256

Papel Kraft blanco puro monolúcido

Este papel fabricado en el país según normas IRAM 3106 posee una elevada resistencia mecánica, un gramaje de 60 a 80 g/m² y una porosidad menor de 0,3 mm, por lo cual resulta una buena barrera antimicrobiana en las condiciones adecuadas de almacenamiento. Posee un lado áspero (exterior) y uno satinado (interior), de modo que no libera pelusas. Fue el papel más utilizado en esterilización.

Papel medicinal de grado quirúrgico

Este papel tiene buena resistencia al desgarro y hace las veces de una barrera antimicrobiana, como lo exigen las normas internacionales. Tiene una porosidad de 0,1 μm y el gramaje es de 60 a 65 g/m².

Ventajas

- Es económico y descartable (para un solo uso). No es aconsejable su reutilización, porque se pierden sus propiedades físicas y mecánicas.
- Constituye una barrera eficaz y evita la contaminación si se almacena por largos períodos.

Desventajas

- Según su calidad, puede perforarse, romperse o agrietarse.
- Por su opacidad impide ver el contenido del paquete, lo que hace imprescindible su identificación. Esta maniobra debe realizarse por medio de un marcador indeleble y no atóxico con punta de nailon y antes de colocar o envolver el instrumento o material para evitar perforaciones en el envoltorio.

Papel ventana, pouches o envases "pelables"

Constan de una cara de laminado transparente de alta resistencia a la tracción confeccionada con polipropileno y de otra cara de papel de grado quirúrgico.

Estos envoltorios son termorresistentes, de modo que pueden ser usados en procesos de esterilización por vapor, ya que soportan temperaturas de aproximadamente 140-150 °C.

Se comercializan en forma de *pouches* o bolsas de varias medidas, incluso con fuelle o en bobinas de 100 m de longitud y de anchos variables. El cierre puede ser autoadhesivo o realizado con máquinas termoselladoras automáticas (eléctricas o neumáticas).

CONTROLES DEL PROCESO DE ESTERILIZACIÓN

Las acciones odontológicas que se ejecutan durante la atención de los pacientes requieren instrumental y materiales estériles, y es preciso tener una garantía real de que esto se cumpla. Por eso es necesario utilizar elementos que nos certifiquen que el proceso de esterilización ha sido eficaz, lo que puede lograrse por medio de los controles de esterilización. Existen diversos tipos:

- Controles físicos.
- Controles químicos.
- Controles fisicoquímicos.
- Controles biológicos.

Controles físicos

Los controles físicos, que sirven para verificar las condiciones de funcionamiento mecánico del equipo de esterilización, consisten en revisar las juntas, los burletes, el cierre y las resistencias, así como los instrumentos que permiten registrar los parámetros del proceso, es decir, termómetros para medir la temperatura, manómetros para presión, *timer* para tiempo, etcétera.

Estos controles deben realizarse al iniciar el ciclo, en su transcurso y al finalizarlo, y es aconsejable que los datos obtenidos durante el proceso se asienten en un libro. Actualmente existen equipos que cuentan con un registro escrito automático para constatar los valores alcanzados por los parámetros físicos (temperatura, presión y tiempo), lo que resulta de gran ayuda y practicidad.

Estos controles deben realizarse todos los días y en todos los ciclos.

Termómetro de máxima

El termómetro de máxima, que puede emplearse cuando los equipos de esterilización carecen de termómetro, indica la temperatura máxima que se ha alcanzado en la fase de calentamiento, pero no su tiempo de mantenimiento.

Los parámetros físicos del proceso por sí solos no son garantía de esterilización.

Controles químicos

Se llaman también indicadores colorimétricos. Son tiras reactivas, con una pequeña zona impresa con compuestos de sales metálicas que cambian su color a determinadas temperaturas.

Sólo indican si se alcanza o no la temperatura de esterilización.

Controles químicos externos

En el mercado hay etiquetas o envoltorios que incluyen estos indicadores, que se colocan en el exterior del paquete o de los elementos a esterilizar y sirven para comprobar rápidamente si el material fue sometido a un proceso de esterilización o no.

Controles químicos internos

Se colocan en el interior del paquete. Para ciclos de calor seco se utilizan indicadores que cambian de color a una determinada temperatura y después de cierto tiempo. Para ciclos de calor húmedo se utilizan los indicadores de temperatura y vapor.

Los controles químicos, tanto externos como internos, deben ser colocados en cada paquete.

Controles químicos de funcionamiento

Una prueba de aire residual para autoclaves de vacío previo es el *test* de Bowie y Dick. Este *test* consiste en ubicar una lámina de control en el centro de un paquete textil estándar de un tamaño aproximado de 43 cm, 24 cm y 26 cm de alto y de 5,5 kg de peso. Actualmente existen paquetes descartables que poseen la ventaja de ser más pequeños y de no estar sujetos a las variaciones de los paquetes confeccionados por uno mismo.

Esta prueba, que se emplea para detectar la penetración del vapor en el interior del paquete, se realiza siempre en las mismas condiciones:

- Primer ciclo del día.
- Cámara vacía.
- La lámina de prueba se ubica en la región antero-inferior (sobre la llave de purgado, que es la zona más fría).
- En posición horizontal.
- A 134 °C durante 210 segundos (3 minutos y medio).

Si el proceso fue eficaz, el indicador debe virar de manera uniforme en toda su extensión. Si el resultado es incorrecto, la lámina de prueba presentará un color tenue o zonas de distinto color (fig. 31-45).

Controles fisicoquímicos o integradores

Se trata de controles fisicoquímicos ideados para integrar los efectos de la temperatura, el tiempo y el agente esterilizante; en forma inmediata se obtiene información sobre si el ciclo transcurrió correctamente. Estos controles constituyen un

Monitor biológico completo

Su principal diferencia respecto de los anteriores es que el medio de cultivo forma parte de la unidad de control, lo que ofrece la ventaja de que no es necesario realizar la inoculación aséptica de las tiras.

Por otra parte, los resultados se interpretan a través de un cambio de color que se produce en el medio debido a la modificación del pH generado por el crecimiento microbiano.

La periodicidad con la que deben realizarse los controles biológicos depende de la frecuencia de uso de los aparatos de esterilización. Lo ideal sería que se los realizara en cada carga, pero debido a la demora en obtener los resultados y a que es posible contar con los integradores, se sugiere que se los lleve a cabo una vez por semana en los aparatos de uso intensivo y mensualmente en los de poco uso.

Existen casos especiales en los cuales es imprescindible realizar este tipo de control como se explica en el cuadro 31-6.

Todos los controles físicos, químicos y biológicos son obligatorios según la disposición 109 del Ministerio de Salud y Acción Social de la Nación del 11 de enero de 1991 y forman parte del programa de validez del proceso de esterilización.

CAUSAS DE FALLAS EN LA ESTERILIZACIÓN Y SUS POSIBLES CONSECUENCIAS (TOMADO DE MILLER, 2000)

- Limpieza inadecuada del instrumental: los restos o detritos pueden proteger a los microorganismos de la acción del agente esterilizante.
- Empaquetamiento inapropiado del material:
 1. Los contenedores cerrados colocados en autoclaves de vapor impiden el contacto directo del instrumental del vapor de agua que debe circular libremente.

2. El empaquetamiento excesivo retarda la penetración del agente esterilizante.
3. Envoltorio equivocado para el método de esterilización: algunos envoltorios pueden derretirse y otros impiden o retardan la penetración del agente esterilizante.

- Carga inapropiada del esterilizador:

1. La sobrecarga aumenta el tiempo necesario para alcanzar el máximo de temperatura, lo que dificulta la penetración del agente esterilizante en la parte central de la carga.
2. Un volumen de carga adecuado pero muy próximo entre sí dificulta o retarda el contacto del agente esterilizante con todos los artículos de la cámara.

- Tiempo inapropiado:

1. Manejo incorrecto del esterilizador.
2. Se cuenta el tiempo sin esperar que el interior del esterilizador llegue a la temperatura deseada.
3. Se abre la puerta una vez que ha comenzado el ciclo de esterilización.
4. Mal funcionamiento del reloj.

Como consecuencia, aunque la temperatura sea la adecuada, el tiempo es insuficiente para destruir a los microorganismos.

- Temperatura inapropiada:

1. Uso incorrecto del esterilizador.
2. Mal funcionamiento del esterilizador: es probable que la causa sea una fuga de calor por fallas en el aislamiento de las paredes, lo que genera un calentamiento insuficiente a pesar de mantenerse durante el tiempo apropiado.

Cuadro 31-6. Indicaciones especiales para realizar controles biológicos (adaptado de Miller CH y Palenik CJ, 2000)

¿Cuándo?	¿Por qué?
<ul style="list-style-type: none"> • Se modifica el tipo de envoltorio • Se entrena personal responsable de esta tarea • Se ha adquirido un esterilizador nuevo • Se ha enviado el equipo a reparar • Se modifica la forma de cargar el aparato 	<ul style="list-style-type: none"> • Para asegurar la correcta penetración del agente esterilizante • Para garantizar el uso apropiado del equipo • Para controlar el proceso de esterilización • Para asegurarse de que el equipo esté funcionando adecuadamente • Para verificar que la esterilización siga siendo eficaz

Preguntas de revisión

1. ¿Qué métodos puede utilizar para llevar a cabo la descontaminación?
2. ¿En qué casos utilizaría soluciones enzimáticas y para qué?
3. ¿Qué finalidad tiene el lavado y qué tipos conoce? Mencione las características principales de cada uno.
4. ¿Qué importancia tiene el enjuague del instrumental?
5. ¿Cómo realizaría el secado y con qué objetivo?
6. ¿Qué inconvenientes puede generar la lubricación del instrumental con productos aceitosos?
7. ¿Qué propiedades debe reunir el material para acondicionar?
8. ¿Qué material de envoltura puede utilizarse para calor húmedo y cuál para calor seco?
9. ¿Qué elementos pueden esterilizarse en autoclave?
10. ¿Qué elementos pueden esterilizarse en estufa de calor seco?
11. ¿De qué depende el mantenimiento de la esterilidad?
12. ¿Qué tipos de control pueden realizarse para validar el equipo de esterilización y cuándo los llevaría a cabo?
13. ¿Por qué los controles biológicos resultan los más efectivos?
14. Mencione alguna causa (y su consecuencia) que pueda ser considerada como falla de la esterilización.

Problema 31-1

Al laboratorio de Microbiología se le remite un tubo de ensayo de vidrio que contiene material purulento para ser procesado.

Preguntas:

1. ¿Cómo debe encontrarse el laboratorio antes de comenzar a trabajar?
2. ¿Qué medidas de protección personal debe implementar el microbiólogo?
3. ¿Cómo debe manipularse el asa para tomar la muestra?
4. ¿Luego de procesada la muestra biológica que debe hacerse con el tubo?
5. El microbiólogo decide sembrar en un medio de cultivo sólido, con una amplia superficie aprovechable para poder aislar, ¿dónde lo siembra?
6. Si sospecha que en una muestra puede haber microorganismos anaerobios, ¿dónde debe colocar el microbiólogo el material sembrado para brindarle las condiciones atmosféricas y de temperatura necesarias para su desarrollo?

Problema 31-2

Llega al laboratorio de Microbiología una muestra biológica obtenida a través de la piel de una tumefacción ubicada debajo del ángulo mandibular izquierdo. En el tubo de ensayo remitido, se observa macroscópicamente un pus muy espeso de color blanco amarillento.

Preguntas:

1. Por la consistencia de la muestra, ¿cómo debe realizar el extendido?
2. ¿Qué técnicas de coloración podría utilizar para diferenciar los microorganismos presentes en la muestra?
3. De acuerdo con la coloración elegida, ¿cómo debe realizar la fijación del extendido?
4. Luego de realizada la primera coloración se observan bacilos ramificados flexuosos de color violeta, ¿qué coloración se utilizó, cómo se denomina esta afinidad tintorial y por qué se observan de este color?
5. Si realizó además coloración de Ziehl-Neelsen u otra de ácido resistencia, explique por qué.

Problema 31-3

El laboratorio microbiológico recibe una muestra obtenida de un paciente, que se extrajo de la bolsa periodontal de 8 mm de profundidad, del primer molar inferior derecho, con un cono de papel que fue colocado en un tubo de ensayo estéril. El laboratorio la recibió cuatro horas después de realizada la toma. El responsable del laboratorio rechazó la muestra por no reunir las condiciones necesarias.

Preguntas:

1. ¿Es correcto colocar la muestra en un tubo de ensayo estéril para este caso?
2. Para este caso en particular, ¿qué debió haber utilizado y por qué?
3. ¿Puede haber sido la demora en el envío, la causa del rechazo de la muestra?

Problema 31-4

Concurre a la consulta odontológica un paciente con dolor y tumefacción en el cuadrante inferior izquierdo. En la anamnesis responde que este episodio no es la primera vez que le ocurre y que cada vez que le aparece la hinchazón se automedica con un comprimido azul y que luego de tomarlo durante cuatro o cinco días se desinflama y que esta mañana tomó la última pastilla.

A la inspección y auscultación clínica se observa una fístula en fondo de surco vestibular a nivel de las piezas 3.4 y 3.5, además se detectan ganglios regionales infartados. En el examen radiográfico se observa un proceso periapical en la pieza 3.5.

El profesional decide suspender la medicación que tomaba el paciente, hacer una toma de saliva como muestra y solicitar al laboratorio microbiológico la realización de un antibiograma en su recetario profesional. Se la entrega al paciente para que al día siguiente la lleve al laboratorio.

Preguntas:

1. ¿Es suficiente que el profesional haya suspendido en el momento de hacer la toma la medicación que tomaba el paciente?
2. ¿Es correcta la muestra tomada de acuerdo con el cuadro clínico?
3. ¿Qué error comete el profesional al solicitar simplemente un antibiograma?
4. ¿Es correcta la demora en el envío de la muestra?
5. ¿Qué conducta debió tomarse en esta urgencia?

Problema 31-5

Concurre a la consulta un paciente de 25 años que presenta una lesión en la semimucosa del labio inferior. En el interrogatorio el paciente relata que su aparición data de unos 15 días atrás y que a pesar de colocarse una pomada cicatrizante nunca mejoró. En el examen estomatológico se observó una exulceración indolora, de base indurada y con un exudado seroso en su centro, con adenopatía regional.

Preguntas:

1. De acuerdo con las características descritas, ¿podría sospecharse que se trata de una sífilis?
2. Si el diagnóstico presuntivo es sífilis primaria, ¿qué estudio serológico con antígenos no específicos debe solicitarse?
3. Si el resultado anterior es positivo, ¿puede confirmarse sólo con esta prueba que se trata de una sífilis?
4. ¿Qué otra técnica debe solicitarse para confirmar dicho diagnóstico?
5. ¿Cuándo se interpreta que la reacción es positiva o negativa?

Problema 31-6

Finalizada la atención odontológica, la asistente recoge el instrumental y lo coloca en un recipiente plástico, al cual agrega un poco de agua corriente y dos tapitas de lavandina. Aparta el recipiente a un costado de la piletta y regresa al consultorio a prepararlo para el próximo paciente. Allí encuentra una pinza para algodón suelta y la agrega al recipiente con descontaminante. A los 30 minutos, con un par de guantes de látex coloca el envase plástico bajo el chorro de agua corriente, la deja correr, saca el instrumental, lo seca con una toalla de tela y lo coloca suelto en una bandeja para esterilizar en estufa.

Preguntas:

1. ¿Cómo debió haber preparado la solución desinfectante?
2. ¿Qué recaudos debió tomar entre la cantidad de instrumental y la de desinfectante?
3. ¿Fue correcto agregar la pinza para algodón al recipiente?
4. ¿Qué tiempo de contacto desinfectante-instrumental se recomienda internacionalmente?
5. ¿La asistente estaba correctamente preparada para continuar la recuperación del instrumental?
6. ¿Cómo debió realizar el lavado?
7. ¿Es correcto el secado realizado?
8. ¿Cómo debió realizar el acondicionamiento?
9. ¿Qué procedimiento de esterilización avala la OMS, a qué tiempo y qué temperatura?

BIBLIOGRAFÍA

- Bößmann K, Heinenberg BJ. Medidas higiénicas en la clínica dental. 1ª ed. Barcelona: Doyma, 1992; pp. 19-33.
- Cottone JA, Terezhalmay GT, Molinari JA. Practical infection control in dentistry. 2ª ed. Baltimore: Ed. Williams and Wilkins, 1996.
- Cuesta A, Gliosca L, Jewtuchowicz, V, Rosa A. Optimización del uso de detergentes enzimáticos en la práctica odontológica. Rev FOUNT, 2004;17:16-21.
- Hovius M. Disinfection and sterilisation: the duties and responsibilities of dentists and dental hygienists. Int Dent J, 1992;42:241-44.
- Malagamba MI. Guías y recomendaciones para la esterilización y desinfección. Rev Infect y Microbiol Clin, 1999;11(3):60-70.
- Merchant VA. Infection control in the dental laboratory: concerns for the Dentist. Compend Contin Educ Dent, 1993;XIV(3):382-91.
- Miller C. Esterilización y desinfección: lo que el odontólogo debe saber, Compendio, 1993;2:25-34.
- Miller CH, Palenik CJ. Control de la infección. Madrid: Ed. Harcourt, 2000.
- Negróni MB, Molgatini SL, Rosa AC, González MI, Macchi R. Método alternativo para control biológico. Rev Asoc Odont Arg, 1996;84(2):35-39.
- OMS Desinfección y esterilización en Manual de Bioseguridad en el laboratorio 2ª ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1994; pp. 64-75.
- Pociecha de Fornas CB. Empaquetamiento. En: Curso de esterilización práctica. Comité de Control de Infecciones. Hospital Italiano de Buenos Aires, 1993; pp. 5-9.
- Rosa AC, Molgatini SL. Control de la infección en operatoria dental. En: Lanata EJ. Operatoria dental. Estética y adhesión. 2ª ed. Buenos Aires: Grupo Guía, 2005; pp. 67-77.
- Rosa AC., Molgatini SL. Esterilización. Instrucciones generales para enviar el material e instrumental a la Central. Folleto Institucional FOUBA, 2007.
- Rosa de Nistri AC, Molgatini SL, Argentieri A. Guía general de bioseguridad para el control de infección en la práctica odontológica. Primera Parte. FOUBA, 2007.
- Rosa AC, Molgatini SL, Piovano S, Marcantoni M. Control de la infección en Odontología. 1ª parte. Boletín de la Asoc Arg de Odontología para Niños, 2001;30(1):11-15.
- Rosa AC, Molgatini SL, Piovano S, Marcantoni M. Control de la infección en Odontología. 2ª parte. Boletín de la Asoc Arg de Odontología para Niños, 2001;30(2):18-23.
- Rosa AC, Molgatini SL, Piovano S, Marcantoni M. Control de la infección en Odontología. 3ª parte. Boletín de la Asoc Arg de Odontología para Niños, 2001;30(3):17-21.
- Wooten RR, Barata MC. Procedure-specific infection-control. Recommendations for dentistry. Compend Contin Educ Dent, 1994;XIV(3):332-44.
- Young JM. Dental equipment asepsis. Dental Clin North Am, 1991;35(2):391-413.

LISTA DE ACONTECIMIENTOS HISTÓRICOS IMPORTANTES PARA LA EVOLUCIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA GENERAL Y ESTOMATOLÓGICA

María Isabel Bernat y Liliana Turcot

INTRODUCCIÓN

Así como la odontología constituye una rama de la medicina o arte de curar, la microbiología bucal representa una especialización de la microbiología general médica; ambas tienen una historia y un destino compartidos.

Desde el punto de vista biológico e infectológico, la cavidad bucal es inseparable del resto del organismo y constituye un reservorio de centenares de especies de microorganismos (desde bacterias, hongos y protozoos hasta algunos virus) que son determinantes de patologías inmunoinfecciosas con repercusión local y sistémica, como se vio en esta obra.

La evolución conjunta de la medicina y la odontología, la microbiología y la inmunología ha sufrido diferentes etapas de desarrollo, desde principios intuitivos o mágicos hasta las más recientes etapas científicas de alto desarrollo tecnológico, que han permitido una explosión de hipótesis y conocimientos que parecen acercarnos a la comprensión de la compleja realidad biológica-infectológica.

En el cuadro 32-1 se resumen algunos de los sucesos más notables en el campo de la microbiología, la inmunología y la tecnología que participaron en el avance del conocimiento científico. Muchos acontecimientos han sido descartados no por falta de méritos, sino por la naturaleza del texto.

Cuadro 32-1. Cronología de los sucesos más notables en el campo de la microbiología

<i>Fecha</i>	<i>Autor o investigador</i>	<i>Acontecimiento o aporte</i>
a. C.	Aristóteles y Marcus T. Varro	Interpretación teórica sobre la existencia de seres vivos invisibles en el mundo
Siglos XII-XIII	Bacon, Roger	Concepto teórico de la sepsis en algunas enfermedades
1546	Fracastorius, Girolamo	Concepto teórico de los mecanismos de contagio
1668	Redi, Francesco	Aportó pruebas acerca de que los microorganismos no surgían por generación espontánea
1669	Kircher, Athanasius	Vinculación de formas microbianas y enfermedad
1673-1723	Van Leeuwenhoek, Antony	Inventó el microscopio. Desarrolló el criterio morfológico para expresar la existencia de microorganismos. Describió con dibujos perfectos bacterias, algas, hongos y protozoos. Los microorganismos fueron visualizados, pero no se los relacionó con las enfermedades
1737	Von Linneus, Carl	Estableció la designación binominal de los microorganismos y de todos los seres vivos
1745	Fauchard, Pierre	Relacionó lo que hoy se conoce como biopelícula y cálculo dental con la aparición de la gingivitis y la periodontitis
1770	Von Plencizk	Conceptos de diversidad de morfologías microbianas y su relación con la enfermedad
1773	Hunter, John	Señaló que las gingivitis y la periodontitis podían repercutir en otras zonas del organismo

(Continúa)

Cuadro 32-1. Cronología de los sucesos más notables en el campo de la microbiología. (Cont.)

Fecha	Autor o investigador	Acontecimiento o aporte
1775	Spallanzani, Lazzaro	Rechazó la generación espontánea y perfeccionó los métodos de protección del material fermentable. Introdujo el concepto de "animalícula de clase alta (protozoos y levaduras) y animalícula de clase baja (bacterias)"
1798	Jenner, Edward	Vacunación contra la viruela
1836	Bassi, Agostino	Demostó que un hongo era la causa de una enfermedad (de los gusanos de seda)
1837	Schwann y Schulze	Experiencia que demostró que podía esterilizarse el aire, así comprobó la falsedad de la teoría de la generación espontánea
1846	Elchsted y Sluyter	Etiología de la pitiriasis versicolor
1857	Pasteur, Louis	Introdujo la teoría infecciosa de la enfermedad. Demostró que las levaduras son responsables de las fermentaciones
1861	Pasteur, Louis	Refutó la teoría de la generación espontánea
1864	Pasteur, Louis	Desarrolló la pasteurización
1864	Lister, Joseph	Desarrolló la técnica de cirugía aséptica. Estudió la fiebre puerperal y desarrolló métodos de prevención de la mortalidad mediante el empleo de desinfectantes
1870	Abbe, Ernest	Desarrolló el condensador y el objetivo de inmersión en aceite para el microscopio compuesto
1876	Koch, Robert	Demostó la teoría infecciosa
1877	Koch, Robert	Descubrió el <i>Bacillus anthracis</i> , agente causal del carbunco
1877	Cohn, Ferdinand	Padre de la taxonomía, estableció diferencias entre los microorganismos, hizo una descripción fundamental del <i>Bacillus subtilis</i> , junto a Koch, describió el ciclo bacilo-espora
1879	Neisser, Albert	Descubrió la <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , agente causal de la gonorrea
1880	Miller, WD	Es considerado "el padre de la microbiología bucal". Expuso la teoría quimioparasitaria, en la cual los microorganismos acidógenos producen ácidos que desmineralizan el esmalte y la dentina
1880	Pasteur, Louis	Desarrolló técnicas de inmunización. Descubrió el <i>Streptococcus pneumoniae</i> , causante de un tipo de neumonía
1880	Beijerinck, Martinus	Descubrió las bacterias fijadoras de nitrógeno en las raíces de ciertas plantas
1881	Koch, Robert	Desarrolló técnicas de cultivo (primer medio sólido) y tinción para microorganismos
1881	Hesse, Walter	Perfeccionó el cultivo en medios sólidos con el uso del agar
1882	Koch, Robert	Descubrió el <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , agente etiológico de la tuberculosis, y publicó sus postulados para demostrar que un microorganismo en particular produce una enfermedad específica
1883	Koch, Robert	Descubrió el <i>Vibrio cholerae</i> , agente etiológico del cólera
1883	Metchnikoff, Elie II	Expuso su teoría fagocítica y desarrolló la teoría celular de la inmunidad
1884	Loeffler, Friedrich y Klebs, Edwin	Descubrieron el <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , agente causal de la difteria
1884	Gram, Hans	Desarrolló una técnica de tinción diferencial para observar bacterias
1884	Chamberland, C	Hizo fabricar la autoclave de vapor de agua
1884	Kitasato, S y Nicolaier, A	Descubrieron el <i>Clostridium tetani</i> , agente etiológico del tétanos
1885	Escherich, T	Descubrió el <i>Escherichia coli</i> , agente etiológico de infecciones urinarias e intestinales
1887	Petri, Richard	Introdujo la placa cubierta para cultivar microorganismos en un medio sólido
1888	Roux, Emile y Yersin, Alexander	Estudiaron toxinas bacterianas
1889	Bujwid, O	Primer aislamiento de <i>Actinomyces</i> a partir de una lesión humana
1899	Wolff e Israel	Confirmaron las condiciones anaeróbicas de <i>Actinomyces israelii</i>
1890	Ehrlich, Paul	Propuso una teoría de la inmunidad basada en los anticuerpos
1890	Behring, Emil	Desarrolló la antitoxina diftérica
1890	Koch, Robert	Desarrolló experiencias sobre hipersensibilidad
1891	Miller Wieloughby, D	Enunció la teoría focal, por la cual las bacterias bucales originan infecciones en otros puntos del organismo
1892	Iwanowski, Dimitri	Descubrió un microorganismo filtrable (virus) causante de la enfermedad del mosaico del tabaco
1894	Plaut, HC	Asoció las bacterias fusiformes y las espiroquetas con infecciones de los tejidos periodontales
1894	Bordet, Jules	Desarrolló estudios sobre el complemento
1897	Williams, Leon	Encontró acumulaciones de bacterias adheridas al esmalte cariado en las zonas con caries incipiente

(Continúa)

CONCLUSIÓN

La microbiología bucal ha evolucionado desde la etapa microbiana a concepciones más ecológicas y a la aun más reciente de correlación inmunoinfecciosa y de coparticipación viral.

La tecnología de DNA-RNA, de alta sensibilidad y especificidad diagnósticas, permite suponer

que en el futuro inmediato habrá una mayor comprensión de la etiopatogenia de las enfermedades infecciosas de la cavidad bucal.

Por último, las nuevas tecnologías de microscopía e inmunología molecular se perfilan como recursos que expandirán exponencialmente y más allá de lo imaginable las multifacéticas fronteras de la infectología.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas A, Lichtman A, Pober JP. Sección I. Capítulo 1: Propiedades generales de las respuestas inmunitarias. En: Abbas A, Lichtman A, Pober JP. *Inmunología celular y molecular*. 2ª ed. España: Editorial Interamericana, 1995; pp. 4-14.
- Asimov I: Breve historia de la Biología. Buenos Aires: EUDEBA, 1966.
- Davis B. Capítulo 1: Evolución de la Microbiología y de los microbios. En: Davis BD, Dulbecco R, Eisen HM y Ginsberg HS. *Tratado de Microbiología*. Barcelona: Masson, 1996; pp. 3-11.
- de Torres R. Capítulo 1: Evolución de las ideas básicas en el desarrollo de la Microbiología. En: Basualdo JA, Coto C, De Torres R. *Microbiología biomédica*. Bacteriología. Micología. Virología. Parasitología. Inmunología. Buenos Aires: Editorial Atlante, 1996; pp. 3-26.
- Divo A. Capítulo 1: Microbiología: definición y divisiones. Datos históricos, importancia de su estudio. En: Divo A. *Microbiología Médica*. 2ª ed. México: Interamericana, 1971; pp. 3-8.
- Evans RT. Oral infection and immunity. In: Nisengard RJ, Newman MG. *Oral microbiology and immunology*. 2ª ed. USA: WS Saunders Company, 1994; pp. 1-7.
- Hintzsche E. El microscopio. *Acta Ciba*. Mayo-Junio 1949; p. 66.
- Liébana Ureña J, Prats PG. Capítulo 1: Introducción al estudio de la Microbiología oral. En: Liébana Ureña J. *Microbiología oral*. España: Interamericana-McGraw-Hill, 1995; pp. 3-10.
- Morhart R, Cowman R, Fitzgerald R. Capítulo 12: Determinantes ecológicos de la microbiota oral. En: Menaker L. *Bases biológicas de la caries dental*. España: Salvat, 1986; pp. 279-92.
- Nolte W. Capítulo 1: Citología de los microorganismos. En: *Microbiología odontológica*. 4ª ed. México: Editorial Interamericana, 1992; pp. 3-4.
- Shklar G, Carranza FA. Introduction: the historical background of periodontology. In: Carranza F, Newman M. *Clinical periodontology*. 8ª ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996; pp. 1-10.
- Stanier R, Ingraham J, Wheelis M, Painter P. Capítulo 1: Los comienzos de la Microbiología. En: Stainer, Ingraham, Wheelis, Painter. *Microbiología*. España: Editorial Reverté, 1996; pp. 1-16.
- Tórtora G, Funke BR, Case Ch. Capítulo 1: El mundo microbiano y el hombre. En: Tortora, Funke, Case. *Tratado de Microbiología*. España: Editorial Acribia, 1993; pp. 2-4.

5. Debe haber desarrollado entre los 7 o más días.

Problema 10-1

1. Debe tratarse de *Entamoeba gingivalis*.
2. Como los demás Sarcodina es unicelular, tiene un núcleo central o cariosoma. En el citoplasma se diferencia el ectoplasma (granular) del endoplasma.
3. Se reproduce por fisión binaria.
4. Se moviliza por pseudópodos.
5. Se lo encuentra en bocas con mala higiene y en las que tienen bolsas periodontales.
6. Se transmite en forma directa de boca a boca.
7. Por medio de preparados coloreados.
8. Se asemeja en la etapa de trofozoíto a *Entamoeba histolytica*.

Problema 11-1

1. No es adecuado preparar el descontaminante previo a la atención de los pacientes. La solución debe diluirse en el momento que comienza la descontaminación (inmediatamente antes de colocar el instrumental por descontaminar).
2. No. El instrumental debe colocarse todo junto al mismo tiempo.
3. El principio activo se agota y no cumpliría función descontaminante.
4. Sí a partir del momento de dejar el instrumental en contacto con el desinfectante.

Problema 12-1

1. La asociación de una aminopenicilina con inhibidores de la beta-lactamasa, como la amoxicilina y el ácido clavulánico o la ampicilina y el sulbactam, otorga cobertura para la mayoría de los microorganismos que provocan patología periodontal, incluidos los anaero-

bios. Otros esquemas posibles, en particular en pacientes con alergia mayor a beta-lactámicos, es la administración de eritromicina u otros macrólidos asociados con metronidazol.

2. Las aminopenicilinas, la amoxicilina y la ampicilina actúan a nivel de la síntesis de la pared celular. La eritromicina por ser un macrólido inhibe la síntesis proteica. El metronidazol actúa por un mecanismo múltiple, que incluye inhibición del DNA. El sulbactam es una sulfona del ácido penicilínico con acción sobre la beta-lactamasa.
3. Si bien no hay pruebas "in vitro" que confirmen que el uso de metronidazol y un beta-lactámico es útil, en la práctica se han logrado más rápidas mejorías con esta asociación.
4. El efecto obtenido sería sinergismo.

Problema 13-1

1. Para una rápida esterilización se puede utilizar un ciclo sin acondicionar el instrumental que es el ciclo *flash*.
2. La ventaja de este método es la rapidez de recuperación y la desventaja es que al no estar envuelto el instrumental puede contaminarse después de su esterilización.
3. Debe esterilizarse por autoclave de calor húmedo de 134 °C durante 18 minutos con ciclo de secado y con el instrumental envuelto.

Problema 14-1

1. La prueba del NBT (*nitroblue tetrazolium*, nitroazul de tetrazolio) valora la producción de especies reactivas del oxígeno, como este niño tiene deficiencia de la NADPH oxidasa, no produce esas especies o las produce en escasa cantidad; por lo tanto, no hay cambios en la base incolora del nitroazul de tetrazolio.
2. Actualmente puede realizarse la prueba de la dihidrorrodamina y evaluar la pro-

4. No, porque la demora en el envío de la muestra desde el momento de la toma hasta su remisión puede ocasionar modificaciones en la vitalidad del germen o permite la proliferación de otros microorganismos.
5. Tomar la muestra correcta, realizar dos extendidos y solicitar coloración de Gram, cultivo y antibiograma. Prescribir empíricamente una medicación según el diagnóstico presuntivo, los espectros antimicrobianos conocidos y las estadísticas bacteriológicas. Continuar o modificar el tratamiento elegido de acuerdo con el informe del antibiograma remitido por el laboratorio.

Problema 31-5

1. Sí, porque se trata de un paciente joven, con una lesión ulcerada, indolora con exudado seroso y adenopatía regional, características que permiten sospechar como diagnóstico presuntivo un chancro sífilico.
2. Deben solicitarse las pruebas no treponémicas de VDRL o RPR que emplean un antígeno no treponémico capaz de detectar anticuerpos con reacción cruzada.
3. No, ya que se trata de pruebas inespecíficas por el carácter heterogénico del antígeno y con otros procesos patológicos (tuberculosis, lepra, etc.) pueden también dar resultados falsos positivos.
4. Pueden solicitarse pruebas de inmunofluorescencia indirecta, como la FTA-ABS, que se trata de una prueba que permite detectar la presencia de anticuerpos específicos contra *Treponema pallidum*. Esta prueba es reactiva en casi el 80% de los pacientes con sífilis primaria. Es especialmente útil para confirmar o excluir el diagnóstico de sífilis en sujetos con reacciones que se sospechan como falsos positivos en la prueba de VDRL.
5. La reacción positiva es cuando se observan los treponemas fluorescentes sobre un fondo negro. En ausencia de anticuerpos en el suero no se observa fluorescencia en el microscopio; sólo se visualiza un campo negro (reacción negativa).

Problema 31-6

1. Debió preparar una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%: a partir de agua lavandina concentrada (55 g cl/l) en dilución acuosa 1:10 en la siguiente proporción: 9 partes de agua corriente y 1 parte de agua lavandina.
2. No tomó la precaución de establecer una adecuada relación entre el volumen del desinfectante y la cantidad de instrumental, de manera que éste quedara suelto y correctamente cubierto por la solución descontaminante.
3. Nunca debió agregar instrumental durante el proceso de descontaminación.
4. El tiempo de contacto solución descontaminante-instrumental es de 10 minutos.
5. La asistente debió utilizar un delantal impermeable, guantes resistentes (de uso doméstico), protección ocular y barbijo o mascarilla.
6. Debió lavar la superficie de los instrumentos con cepillos blandos (no de metal) y detergentes líquidos bajo el chorro de agua para evitar la "aerolización".
7. Las toallas de tela no son aconsejables, porque al mantenerse húmedas favorecen la multiplicación microbiana. El secado puede efectuarse por medio de aire caliente forzado o con la utilización de toallas de un solo uso.
8. Debió acondicionar en unidosis, para evitar reesterilizaciones innecesarias del instrumental, teniendo en cuenta que la elección del envoltorio depende del proceso de esterilización que se va a utilizar.
9. El procedimiento aconsejado es el calor húmedo con autoclave de vapor de agua durante 18 minutos a 134 °C, ya que éste posee nivel esporicida y priónico.

ÍNDICE ANALÍTICO

La letra c después de un número de página remite a un cuadro y la letra f, a una figura.

A

- Abscesos perirradiculares, [324](#)
- Acción benéfica
 - de los hongos, [77](#)
 - de los microorganismos, [6](#)
- Acción patógena
 - de los hongos, [88](#), [88c](#)
 - de los parásitos
 - - expoliatriz, [98](#)
 - - lítica, [98](#)
 - - mecánica, [98](#)
 - - mecanismos inmunológicos, [98](#)
 - - tóxica, [98](#)
 - - traumática, [98](#)
- Acervúlos, [83](#)
- Aciclovir, [128](#)
- Ácido alcohol resistentes, bacilos, [18](#)
- Ácido(s)
 - clavulánico, [125](#)
 - dipicolínico, [27](#)
 - micólicos, [21](#), [366](#)
 - nalidíxico, [126](#)
 - paraamino-benzoico (PABA), [126](#)
 - paraaminosalicílico (PAS), [127](#)
 - teicoicos, [18](#), [20f](#)
 - y álcalis, [113](#)
- Actinofitosis, [357](#)
- Actinomicosis, [330f](#)
 - anatomía patológica, [332](#)
 - características, [329](#), [331c](#)
 - clínica, [331](#)
 - diagnóstico, [333](#)
 - epidemiología, [331](#)
 - factores desencadenantes, [331](#)
 - localizaciones, [333c](#)
 - prevención, [334](#)
 - pronóstico, [334](#)
 - tratamiento, [334](#)
- Actinomyces
 - cultivos, [333](#)
 - estructura antigénica, [332](#)
 - factores de patogenicidad, [332](#), [333c](#)
 - *israelii*, [242](#), [330](#)
 - *naeslundii*, [242](#), [330](#)
 - *odontolyticus*, [242](#), [330](#)
 - tratamiento, [240c](#)
 - *viscosus*, [242](#), [330](#)
- Actinomycetaceae, familia, [331c](#)
 - características, [329](#)
 - hábitat, [330](#)
- Adherencia microbiana, mecanismos
 - por ácido lipoteicoico, [233](#)
 - por atrapamiento físico, [234](#)
 - por polisacárido extracelular, [232f](#), [234](#)
 - por unión lectina-carbohidrato, [233f](#), [234](#)
 - por unión proteína-proteína, [233f](#), [234](#)
- ADN extracromosómico, bacteriano, [25](#)
- Adsorción viral, [68](#)
- Aerobios, microorganismos, [49](#)
- Aerotolerantes, microorganismos, [49](#)
- Aflatoxina, [88](#), [88c](#)
- Agar, [552](#)
- Agentes
 - físicos, [133c](#)
 - - desecación, [137](#)
 - - presión osmótica, [137](#)
 - - radiaciones, [137](#)
 - - temperatura, [134](#)
 - mecánicos, [134c](#)
 - - cepillado o fregado, [138](#)
 - - filtración, [138](#)
 - - ultrasonido, [138](#)
 - químicos, acción, [110c](#)
- Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, [278](#), [284](#), [284c](#), [287](#)
- Agrupaciones bacterianas, [11](#)
- Agua oxigenada, [116](#)
- Aislamiento, [556](#)
 - medios para, [51](#)
- Alcoholes
 - aplicaciones, [115](#)
 - concentraciones, [115c](#)
 - cualidades, [115c](#)
 - mecanismo de acción, [115](#)
- Aleuriosporas, [83](#)
- Alfaherpesvirinae*, [419](#)
- Amanita*, [88](#)
- Amantadina, [128](#)
- Amebiasis, [99](#)
- Amerosporas, [83](#)
- Amikacina, [126](#)
- Aminoglucósidos, [126](#)
- Amoxicilina, [125](#)
- Ampicilina, [125](#)
- Anabolismo, microbiano, [50](#)
- Anaerobios facultativos, [49](#)
- Anaerobios moderados, [49](#)
- Anaerobios obligados, [49](#)
- Aneliosporas, [83](#)
- Anfitricas, bacterias, [23](#)
- Anfotericina B, [125](#), [127](#)
- Anopheles*, [476](#)
- Antagonismo, [129](#)
- Antibacterianos, [124](#)
 - mecanismo de acción, [126c](#)
- Antibiogramas
 - contraindicaciones, [562](#)
 - indicaciones, [562](#)
 - por difusión, [565](#)
 - - fallas de laboratorio, [567](#)
 - - fallas profesionales, [567](#)
 - - limitaciones, [567](#)
 - - técnica, [565](#), [566f](#)
 - por dilución, [562](#)
 - - microdilución, [564](#)
 - - técnica, [562](#), [563f](#)
- Antibiótico(s), [123](#)
 - poliénicos, [127](#)
- Anticuerpos
 - características, [175c](#)
 - monoclonales, [174f](#), [176](#)
- Antígeno(s)
 - características, [171f](#)
 - definición, [170](#)
 - H, [24](#)
 - HLA, [181](#)
 - K, [23](#)
 - monoclonales
 - O, [18](#)
 - reconocimiento, [185](#), [186f](#)
 - Vi, [23](#)
- Antimicóticos, [127](#)
- Antimicrobianos no selectivos
 - antisépticos, [108](#)
 - conservantes o preservadores, [109](#)
 - desinfectantes, [108](#)
 - esterilizantes, [109](#)
- Antimicrobianos no selectivos y selectivos, [109c](#)
- Antimicrobianos selectivos
 - antagonismos, [129](#)
 - condiciones ideales, [124](#)
 - efectos adversos, [129](#)
 - espectro, [124](#)
 - indiferencia, [129](#)
 - quimioterápicos, [109](#)
 - sinergismo, [129](#)
 - uso en odontología, [130](#)
- Antiparasitarios, [127](#)
- Antisepsia, [108](#)
 - en odontología, [119c](#)
- Antisépticos y desinfectantes, [108](#)
 - condiciones ideales, [109](#)
 - factores sobre su efectividad, [110](#)
 - mecanismo de acción, [110](#)
- Antivirales, [128](#), [128c](#)
- Apicomplexa*, [101](#)
- Apoenzima, [50](#)
- Apoptosis, [193](#)
- Artroconidios, [83](#)
- Artrópodos, [96c](#), [101](#)
 - hematófagos, [96](#)
- Asa, gancho y aguja, [530](#), [530f](#)
- Ascaris lumbricoides*, [98](#)
- Ascocarpos, [85](#)
- Ascosporas, [84](#)
- Asepsia, [108](#)
- Aspergillus*, [88](#)
- Aspergillus flavus*, [88](#)
- Astenomicosis, [78](#)
- Autoclave(s)
 - carga frontal, [141](#)
 - cassette, [141](#)
 - condiciones ideales, [142](#)
 - desventajas, [141](#)

Autoclave(s) (Cont.)

- portátiles, [140](#)
- químico, [143](#)
- - desventajas, [143](#)
- - ventajas, [143](#)
- temperaturas, [140c](#)
- tipo Chamberlain, [135](#), [599](#)
- ventajas, [141](#)

Autoinmunidad, [207](#), [207c](#)Autótrofos, microorganismos, [46](#)Azidotimidina (AZT), [128](#)Azitromicina, [126](#)Azoles, [127](#)AZT, Véase *Azidotimidina (AZT)***B***Bacillus anthracis*

- características, [384](#), Véase también *Carbunco*

- factores de patogenicidad, [384](#)

Bacillus cereus, [384](#)Bacilo(s), [12f](#)

- ácido alcohol resistentes, [18](#)
- de Koch, [366](#), Véase también *Mycobacterium tuberculosis*

Bacitracina, [125](#)

Bacteria(s)

- ácido alcohol resistentes, [18](#)
- acidófilas, [48](#)
- anfitricas, [23](#)
- extremófilas, [48](#)
- flageladas, [24f](#)
- gramnegativas, [18](#), Véase también *Coloración(es) de Gram*
- grampositivas, [18](#), Véase también *Coloración(es) de Gram*
- lofótricas, [23](#)
- monótricas, [23](#)
- peritricas, [23](#)
- pleomórficas, [13](#)

Bactericida, acción, [124](#)Bacteriófago(s), [57](#), [67](#), [68f](#), [71](#)Bacteriostática, acción, [124](#)*Bacteroides*, [61](#), [236](#)*Balantidium coli*, [99](#), [100f](#)BALT, Véase *Tejido linfoideo asociado a los bronquios (BALT)*BANA, Véase *Benzoil argirina naftilamida (BANA)**Basidiomycotina*, [88](#)Bejel, [376](#)Benzimidazoles, [128](#), [128c](#)Benzoil argirina naftilamida (BANA), [294](#)Beta-lactámicos, [125](#)*Betaherpesvirinae*, [419](#)*Bifidobacterium*, [242](#)Biofilm, Véase *Biopelícula*, cada tipo

Biopelícula bucal

- características, [235](#)
- definición, [235](#)
- endodónticas, [320](#)
- etiopatogenia, [235](#)
- hipótesis ecológica, [236f](#)
- hipótesis de su formación, [235](#)
- resistencia, [300](#)

Biopelícula dental

- agentes antiplaca, [264c](#)
- composición, [255](#)
- control mecánico, [299](#)

- inhibición química

- - adhesinas, [264](#)
- - cargas y superficies libres, [264](#)
- - clorhexidina, [265](#), [265f](#)
- - fluoruros, [266](#), [266f](#)
- - hidrofobicidad, [264](#)
- - polisacáridos extracelulares, [264](#)
- nuevas estrategias preventivas, [267](#), [268f](#)
- - péptidos antibacterianos, [269](#)
- - péptidos anticariogénicos, [268](#)
- - terapias de reemplazo, [268](#)

Biopelícula subgingival, [281](#), [283f](#)

- 1º colonizadores, [283](#)
- 2º colonizadores, [283](#)
- 3º colonizadores, [283](#)
- control químico
 - - antibióticos tópicos, [304](#)
 - - - metronidazol, [305](#)
 - - - tetraciclinas, [304](#)
 - - antimicrobianos sistémicos, [305](#)
 - - - combinaciones, [307](#)
 - - - lincosaminas, [305](#)
 - - - macrólidos, [305](#)
 - - - metronidazol, [306](#)
 - - - tetraciclinas, [305](#)
 - - clorhexidina, [304](#), Véase también *Biopelícula dental*
 - - yodopovidona, [304](#)

Biopelícula supragingival, [281](#)

- control químico
 - - aceites esenciales, [302](#)
 - - amonio cuaternario, [302](#)
 - - clorhexidina
 - - - efectos colaterales, [300](#)
 - - - formas de administración, [301](#)
 - - - indicaciones, [300](#), Véase también *Biopelícula dental*
 - - - interacciones, [301](#)
 - - - ventajas, [301](#)
 - - fluoruros, [303](#), Véase también *Biopelícula dental*
 - - peróxidos, [303](#)
 - - sanguinarina, [303](#)
 - - triclosán, [302](#)
 - - yodopovidona, [302](#)

Biopelícula, complejos microbianos, [281](#)Biopelícula, morfogénesis, [282f](#)

Bioseguridad

- del equipo profesional, [509](#)
- en el consultorio dental, [507](#)
- - ambiente ideal, [507](#)
- - fuente de infección, [508](#)
- enfermedades transmisibles en la consulta dental, [509f](#)
- etapas del acto profesional, [510](#)
- medidas posatención, [511](#)
- recuperación del instrumental, [595](#)
- vacunas, [512](#)

Blastoconidios, [80](#)*Blastomyces dermatitidis*, [90](#)*Borrelia*, [376](#)*Borrelia burgdorferi*, [377](#)*Borrelia recurrentis*, [377](#)Botriomicoma, [357](#)Botulismo, [385](#)

- clínica, [385](#)
- diagnóstico, [386](#)
- epidemiología, [386](#)
- fuente de intoxicación, [385](#)
- prevención, [386](#)
- tratamiento, [386](#)

CCadena epidemiológica, [218f](#)Calcificaciones extraesqueléticas, [43](#)

Cálculo dental

- subgingival, [292](#)
- supragingival, [292](#), [292f](#)

Caldos, [552](#), Véase también *Medios de cultivos*Calmette y Guérin, bacilo, [369](#)Calor húmedo, [134c](#)

- ebullición, [134](#)
- pasteurización, [134](#)
- termodesinfección, [135](#)
- vapor
 - - con presión, [136](#)
 - - de agua, [135](#)
 - - sin presión o fuente, [135](#)

Calor seco, [134c](#)

- esterilizador a bolillas, [136](#)
- estufa, [136](#)
- fuego directo o flameado, [136](#)
- incineración, [136](#)

Candida albicans, [322](#), [340](#), [399](#)*Candida tropicalis*, [400](#)*Candida*, especies, [89](#)

- acción patogénica, [401](#)
- características, [399](#)
- cultivos, [400](#)
- factores de virulencia, [400](#)
- fuente de infección, [400](#)
- sensibilidad agentes físicos y químicos, [400](#)

Candidosis

- características, [399](#)
- causas predisponentes, [401](#)
- clínica, [401](#)
- diagnóstico, [402](#), [403f](#)
- epidemiología, [401](#)
- prevención, [404](#)
- tratamiento, [403](#)

Capsocytophaga, [236](#)Capnófilos, microorganismos, [49](#)Cápside, [66](#)Capsómeros, [66](#)

Cápsula bacteriana

- composición, [23](#)
- funciones, [23](#)

Cápsula de Petri, [529](#)Carbunco, [383](#)

- clínica, [384](#)
- diagnóstico, [384](#)
- epidemiología, [384](#)
- prevención, [384](#)
- tratamiento, [384](#)

Caries dental

- acidofilia, [252](#)
- acidogénesis, [251](#)
- adhesinas, [253](#)
- biopelícula de placa dental, [254](#)
- - composición, [255](#)
- colonización primaria, [255](#)

- colonización secundaria, [256](#)
 - de cemento (raíz), [259](#), [259f](#)
 - - microorganismos involucrados, [260c](#)
 - de dentina, [259](#)
 - - microorganismos involucrados, [259c](#)
 - de puntos y fisuras, [258](#), [258f](#)
 - de superficies libres, [257](#)
 - de superficies proximales, [258](#)
 - dieta, [249](#)
 - etiología, [248f](#)
 - factor tiempo, [253](#)
 - factores de riesgo, [249](#)
 - inmunidad, [269](#)
 - inmunización activa, [270](#)
 - inmunización pasiva, [270](#)
 - mancha blanca, [257](#), [258f](#)
 - metabolismo de la sacarosa, [249](#), [250f](#)
 - microorganismos
 - - factores de virulencia, [251](#)
 - - involucrados, [251](#)
 - nuevos agentes inmunizantes, [270c](#)
 - paradigma Fejerskov, [249](#)
 - polisacáridos extracelulares, [250](#)
 - polisacáridos intracelulares, [251](#)
 - producción de ácidos, [250](#)
 - pruebas microbiológicas, [260](#), [260c](#)
 - quorum sensing, [256](#)
 - teoría de Fitzgerald y Keyes, [248](#)
 - tipos, [257](#), [257f](#)
 - ventana de la infección, [254](#), [254f](#)
 - Cariescram, [260](#)
 - Cariotificación, [495](#)
 - Catabolismo, microbiano, [50](#)
 - Categorías nutritivas, [46](#)
 - Cefalosporinas, [125](#)
 - Célula(s)
 - bacteriana(s)
 - - ADN extracromosómico, [25](#)
 - - cápsula, [23](#)
 - - citoplasma, [22](#)
 - - componentes, [18f](#)
 - - composición química, [14](#)
 - - esporas, [25](#)
 - - fimbrias, [24](#)
 - - membrana celular, [21](#)
 - - nucleoide, [23](#)
 - - pared celular, [17](#)
 - - ribosomas, [22](#)
 - fúngica(s)
 - - características, [79](#)
 - - componentes, [80f](#)
 - - NK, [151](#)
 - presentadoras de antígenos (CPA), [182](#)
 - Centrífuga, [530](#)
 - Cepillado o fregado, [138](#)
 - Cestoda, [101](#)
 - Chancro sífilítico, [374](#)
 - Chlamidophila*, [237](#)
 - Ciclo biológico
 - directo o monoxénico, [96](#)
 - indirecto o heteroxénico, [96](#)
 - Ciclo de esterilización, etapas, [139c](#)
 - Cicloserina, [125](#)
 - Ciliata*, [99](#)
 - Ciliophora*, [99](#)
 - Ciprofloxacina, [126](#)
 - Citocídico, efecto, [70](#)
 - Citocina(s), [190](#)
 - autoinmunidad, [208](#)
 - Citolítico, efecto, [69](#)
 - Citomegalovirus (CMV), [429](#)
 - Citoparásitos, [97](#)
 - Citopatogénico, efecto, [70](#)
 - Citoplasma
 - bacteriano, [22](#)
 - micótico, [79](#)
 - Clamidas
 - acción patógena, [40](#)
 - ciclo reproductivo, [40f](#)
 - clasificación, [40](#)
 - reproducción, [40](#)
 - Clamidia trachomatis*, [41](#)
 - Clamydophila pneumoniae*, [41](#)
 - Clamydophila psittaci*, [41](#)
 - Claritromicina, [126](#)
 - Claviceps purpurea*, [88](#)
 - Cleistotecios, [85](#)
 - Clindamicina, [126](#)
 - Cloranfenicol, [126](#)
 - Clorhexidina
 - aplicaciones, [114](#). Véase también *Biopelícula supragingival y biopelícula dental*
 - mecanismo de acción, [114](#)
 - Cloro y derivados
 - aplicaciones, [116](#)
 - cualidades, [116c](#)
 - precauciones, [116](#)
 - preparación, [117c](#)
 - Cloroquina, [128](#)
 - Clostridium botulinum*
 - características, [385](#), [385c](#)
 - Clostridium tetani*
 - características, [386](#), [386c](#)
 - estructura antigénica, [386](#)
 - forma infectante, [386](#)
 - hábitat, [386](#)
 - patogenicidad, [386](#)
 - vía de penetración, [386](#)
 - Clostridium*, características, [384](#)
 - CMH, Véase *Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH)*
 - CMV, Véase *Citomegalovirus (CMV)*
 - Coccidioides immitis*, [90](#)
 - Cocos, [12f](#)
 - Coenzima, [50](#)
 - Colonización, [214](#)
 - Coloración(es)
 - de cápsula, [548](#)
 - de endosporas, [548](#)
 - de flagelos, [548](#)
 - de Giemsa, [547](#)
 - de Gram, [546](#)
 - de Kinyoun, [547](#)
 - de Ziehl-Neelsen, [547](#)
 - diferenciales o compuestas, [546](#)
 - fluorescentes, [548](#)
 - simple, [545](#)
 - vitales, [549](#)
 - Colorantes, [114](#), [544](#)
 - Columela, [84](#)
 - Comensalismo, [96](#)
 - Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH), [151](#), [181](#), [181f](#)
 - Complejos microbianos en enfermedad periodontal, [283f](#)
 - Complemento, [158](#), [160f](#)
 - alteraciones, [159](#)
 - estudio, [159](#)
 - funciones, [158](#)
 - regulación, [159](#)
 - vías de activación, [158](#)
 - Complicaciones sistémicas
 - diagnóstico, [339](#)
 - por microbiota bucal, [337](#)
 - tratamiento, [339](#)
 - Compuestos imidazólicos, [127](#)
 - Comunidad microbiana
 - clímax, [228](#)
 - consumidores secundarios, [230](#)
 - establecimiento, [229f](#)
 - pionera, [228](#)
 - primeros consumidores, [230](#)
 - Condilomas, [374](#)
 - Congelación, [137](#)
 - Conidios, [82](#)
 - Conjugación, [59](#), [59f](#)
 - Conservantes o preservadores, [109](#)
 - Controles de esterilidad
 - biológicos, [601](#)
 - - indicaciones, [603c](#)
 - físicos, [601](#)
 - físicos-químicos, [601](#)
 - químicos, [601](#)
 - Coremios, [83](#)
 - Corynebacterium*, [242](#), [365](#)
 - características, [379](#), [379c](#)
 - Corynebacterium diphtheriae*
 - factores de virulencia, [380](#). Véase también *Difteria*
 - CPA, [182](#)
 - Crecimiento bacteriano, [47](#)
 - Criopreservación, [559](#)
 - Cryptococcus neoformans*
 - características, [413](#)
 - Criptococosis
 - clínica, [414](#)
 - definición, [413](#)
 - diagnóstico, [414](#)
 - epidemiología, [414](#)
 - evolución, [414](#)
 - fuente de infección, [413](#)
 - inmunidad, [414](#)
 - tratamiento, [414](#)
 - vía de penetración, [414](#)
 - Cubreobjetos, [530](#)
 - Cuerpo elemental, [40](#)
 - Cuerpos de inclusión, [70](#)
 - Cultivos
 - anaerobios, [554](#), [554f](#)
 - celulares, [555](#)
 - para hongos, [555](#)
 - Curva de crecimiento bacteriano
 - etapas, [47](#), [47f](#)
 - Cutícula acelular adquirida
 - composición, [255](#)
 - mecanismo de formación, [255](#)
- ## D
- Dentocult LB, [260](#)
 - Dentocult S, [260](#)
 - Descontaminación, [108](#)
 - Desecación, [137](#)
 - Designación binominal, [5](#)

- Desinfección, [108](#)
- en el consultorio, [119c](#)
 - física, [133](#)
 - y antisepsia, [118](#)
- Desinfectantes, [108](#)
- sitio de acción, [110](#), [111c](#)
- Desnudamiento viral, [68](#)
- Desoxirribonucleasa, [349](#)
- Detergentes
- aniónicos, [113](#)
 - aplicaciones, [113](#)
 - catiónicos, [113](#)
 - mecanismo de acción, [113](#)
- Dextranos, [250](#)
- Diagnóstico
- etiológico, condiciones, [485](#). Véase también *Muestras*
 - molecular, [493](#)
- Dialister*, [241](#)
- Dictiosporas, [83](#)
- Didimosporas, [83](#)
- Difteria, [380](#). Véase también *Corynebacterium diphtheriae*
- clínica, [380](#)
 - cutánea, [380](#)
 - diagnóstico, [380](#)
 - epidemiología, [380](#)
 - incubación, [380](#)
 - prevención, [390](#). Véase también *Vacuna contra la difteria*
 - respiratoria, [380](#)
 - transmisión, [380](#)
 - tratamiento, [390](#)
- Dimorfismo fúngico, [82](#)
- Disciplinas de la microbiología, [5](#)
- Disentería amebiana, [99](#)
- E**
- E-test, [568](#)
- Ebullición, [134](#)
- EBV, Véase *Virus Epstein-Barr (EBV)*
- Ecología bucal, [225](#)
- Ectoparásitos, [96](#)
- Ectoplasma, [99](#)
- Elementos de resistencia
- bacterianos, [25](#)
 - fúngicos, [82c](#)
- ELISA, [588](#)
- Embudo, [530](#)
- Endemia, [216](#)
- Endocarditis infecciosa, [351](#)
- agentes etiológicos, [340](#)
 - aspectos clínicos, [341](#)
 - causas predisponentes, [340](#)
 - definición, [340](#)
 - diagnóstico de laboratorio, [342](#)
 - patogenia, [341f](#)
 - prevención, [342](#)
 - profilaxis antibiótica, [342](#)
 - tratamiento, [342](#)
- Endoparásitos, [97](#)
- Endoplasma, [99](#)
- Endosporas bacterianas, [25](#)
- Endotoxina, [18](#)
- Enfermedad del beso, [428](#)
- Enfermedad de Chagas
- clínica, [472](#)
 - definición, [471](#)
 - diagnóstico, [473](#)
 - epidemiología, [471](#)
 - etiología, [471](#)
 - profilaxis, [473](#)
 - reservorio, [471](#)
 - tratamiento, [473](#)
- Enfermedad de Hansen, [371](#)
- Enfermedades bacterianas, [347](#)
- Enfermedades estreptocócicas, [350](#), [350c](#)
- Enfermedades infecciosas
- clasificación, [215](#)
 - etapas, [218](#)
 - micóticas, [399](#)
 - parasitarias, [459](#)
- Enfermedades periodontales
- biopelícula
 - características, [280c](#)
 - complejos microbianos, [281](#)
 - subgingival, [281](#)
 - supragingival, [281](#)
 - biopelícula dental, [279](#)
 - características, [280](#)
 - clasificación, [278](#), [278c](#)
 - especies identificadas, [289f](#)
 - espiroquetas, [287](#)
 - factores ambientales, [291](#)
 - gingivitis, [276](#)
 - herpes virus, [288](#)
 - interacción microorganismo hospedador, [290f](#)
 - invasión microbiana, [284](#)
 - métodos de diagnóstico
 - biología molecular, [295](#)
 - cultivos bacterianos, [293](#)
 - detección enzimática, [294](#)
 - inmunológico, [294](#)
 - microbiológico, [292](#)
 - microscópico, [293](#)
 - toma de muestra, [293f](#)
 - naturaleza infecciosa, [276](#)
 - patogénesis, [291f](#)
 - periodontitis, [276](#)
 - postulados de Socransky, [277](#)
 - predisposición genética, [291](#)
 - pruebas de detección de periodontopatógenos, [294c](#)
 - quorum sensing, [280](#)
 - respuesta del hospedador, [289](#)
 - respuesta inflamatoria e inmune, [289](#)
 - transmisión de microorganismos, [278](#)
- Enfermedades posestreptocócicas, [350](#)
- Entamoeba gingivalis*, [99](#)
- Entamoeba histolytica*, [98](#), [99](#), [100f](#)
- Enterococcus*, [351](#)
- Enterococcus faecalis*, [239](#), [322](#)
- Envoltura viral, [66](#)
- Enzimas bacterianas
- adaptativas, [49](#)
 - constitutivas, [49](#)
 - exoenzimas, [49](#)
 - penicilinas, [125](#)
- Enzimas virales
- RNA polimerasa, [69](#)
 - transcriptasa inversa o reversa, [69](#)
- Eosinófilos, [151](#)
- Epidemia, [216](#)
- Episomas, [25](#), [57](#)
- Epitipos, [171](#)
- Equinocandinas, [127](#)
- Ergotismo, [88](#), [88c](#)
- Erisipela, [350](#)
- Eritromicina, [126](#)
- Escarlatina, [351](#)
- Esclerotes, [81](#)
- Esferoplasto, [18](#)
- Espacio periplásmico, [18](#)
- Espátula de Drigalsky, [529](#)
- Espículas, [66](#)
- Espirales, [13f](#)
- Espiroquetas
- características, [373](#)
- Esporangios, [84](#)
- Esporangiosporas, [84](#)
- Esporas bacterianas, [26](#)
- constitución, [26f](#), [27](#)
 - deformantes, [26f](#)
 - no deformantes, [26f](#)
- Esporas fúngicas
- asexuadas, [82f](#)
 - no deformantes, [82c](#)
- Esporodocios, [83](#)
- Esporogenesis, [26f](#), [27](#)
- Esporozoos*, [101](#)
- Estafilococos
- antígenos y factores de virulencia, [355c](#)
 - características, [353](#), [354c](#)
 - cuadros clínicos, [356](#), [356c](#)
 - diagnóstico, [357](#)
 - epidemiología, [355](#)
 - especies patógenas, [354](#)
 - factores de virulencia, [354](#)
 - fuente de infección, [355](#)
 - hábitat, [354](#)
 - pared celular, [355f](#)
 - prevención, [357](#)
 - tratamiento, [357](#)
- Esterilización, [133](#)
- a bolillas, [136](#)
 - condiciones ideales, [109](#)
 - consultorio dental, [139](#)
- Esterilizador(es)
- condiciones ideales, [143](#)
 - de aire estático, [142](#)
 - desventajas, [142](#)
 - ventajas, [142](#)
 - de aire forzado, [142](#)
 - químicos, [109](#)
- Estreptocinas, [349](#)
- Estreptococos
- beta hemolíticos del grupo A, [348](#), [350](#)
 - características, [347](#)
 - clasificación, [347](#)
 - cuadros clínicos, [350](#)
 - diagnóstico, [351](#)
 - factores de patogenicidad, [348c](#)
 - factores de virulencia, [348](#)
 - fuente de infección, [349](#)
 - pared celular, [349f](#)
 - prevención, [351](#)
 - transmisión, [350](#)
 - tratamiento, [351](#)
- Estreptolisina O, [348](#)
- Estreptolisina S, [349](#)
- Estreptomina, [126](#)

- Estufa de calor seco, [136](#)
 Estufa de cultivo, [531](#)
 Etambutol, [125](#)
Eubacterium, [241](#)
Eumycotas, [78](#)
 Exfoliatina, [354](#)
 Exosporio, [26f](#), [27](#)
 Exotoxina diftérica, [380](#)
 Exotoxinas y endotoxinas, características, [220c](#)
 Expresión y replicación viral, [68](#)
 Extendidos microbiológicos, [545f](#)
 - técnica, [544](#)
- F**
- Factor cuerda, [21](#), [366](#)
- Factores
- crecimiento, [46](#)
 - estimulantes, [46](#)
- Facultativos, microorganismos, [49](#)
- Fagocitosis
- endosoma, [155](#)
 - fagosomas, [155](#)
 - lisis, [156](#)
 - macrófagos, [157](#)
 - receptores, [152c](#)
- Fagos
- atemperados, [72](#)
 - lisógenos, [72](#)
 - templado, [57](#)
 - virulentos, [57](#)
- Fallas en la esterilización, [603](#)
- Fenol y derivados
- cualidades, [118c](#)
 - índice féenolico, [117](#)
 - mecanismo de acción, [117](#)
- Feosporas, [83](#)
- Fialosporas, [83](#)
- Fiebre puerperal, [350](#)
- Fiebre reumática, [350](#)
- Filamento axial, [24](#)
- Filifactor alocis*, [238](#)
- Filtración, [138](#)
- Fimbrias, [24](#)
- Fisión binaria asincrónica, [32](#)
- Flagelina, [23](#)
- Flagelos, [24](#), [24f](#)
- Floculación, [578](#)
- Flucitosina, [127](#)
- Fluoruros
- acción antiadherente, [267f](#)
 - acción antimicrobiana, [267c](#)
 - mecanismo de acción, [266](#), [266f](#)
- Fontana-Tribondeau, Tinción de, [547](#)
- Formaldehído, [117](#)
- cualidades, [118](#)
- Formas L, [18](#)
- estables, [21](#)
 - inestables, [21](#)
- Foscarnet, [128](#)
- Fosfomicina, [125](#)
- Fotoautótrofos, microorganismos, [46](#)
- Fotoheterótrofos, microorganismos, [46](#)
- Fotótrofos, microorganismos, [46](#)
- Fragmosporas, [83](#)
- Frascos, [529f](#)
- de Erlenmeyer, [529](#)
 - de Kitasato, [529](#)
 - tipo Castañeda, [529](#)
- Fructanos solubles, [251](#)
- Fuego directo o flameado, [136](#)
- Fuente de infección, [217](#)
- parasitosis, [97](#)
- Fusarium*, [88](#)
- Fusobacterium*, [243](#)
- G**
- GALT, Véase *Tejido linfoideo asociado al intestino (GALT)*
- Gammaherpesvirinae*, [419](#)
- Ganciclovir, [128](#)
- Genética bacteriana, [55](#)
- Genoide, [23](#)
- Gentamicina, [126](#)
- Giardia lamblia*, [100f](#)
- Giemsa, coloración, [547](#)
- Glucanos insolubles, [251](#)
- Glucanos solubles, [250](#)
- Glucocálix, [23](#)
- Glutaraldehído, [118](#)
- cualidades, [118c](#)
- Goma, [375](#)
- Gonococo, [361](#), Véase también *Neisseria gonorrhoeae*
- Gram, coloración, [546](#)
- desventajas, [546](#)
 - fundamento, [546](#)
 - técnica, [546](#)
 - ventajas y utilidades, [546](#)
- Gramnegativas, bacterias, [18](#), Véase también *Bacterias gramnegativas*
- Grampositivas, bacterias, [18](#), Véase también *Bacterias grampositivas*
- Gránulos metacromáticos, [25](#)
- Gránulos de volutina, [25](#)
- Griseofulvina, [127](#)
- H**
- Hábitat, [217](#)
- Halófilas, bacterias, [48](#)
- Halógenos
- cloro y derivados, [116](#)
 - - aplicaciones, [116](#)
 - - precauciones, [116](#)
 - yodo, [115](#)
 - yodóforos, [115](#)
 - - aplicaciones, [115](#)
 - - cualidades, [116](#)
 - - mecanismo de acción, [115](#)
- Haptenos, [171](#)
- HAV, [439](#)
- HBV, [441](#)
- HCV, [444](#)
- HDV, [445](#)
- Helintos*, [96c](#)
- Hematopoyesis, [166f](#)
- Hemolisina, [354](#)
- Hemoparásitos, [97](#)
- Hepatitis A
- características, [439](#), [440c](#), [446c](#)
 - clínica, [440](#)
 - diagnóstico, [441](#)
 - epidemiología, [440](#)
 - estructura, [439f](#)
 - fuente de infección, [440](#)
 - inmunización, [441](#)
 - patogenia, [440](#)
 - profilaxis, [441](#), Véase también *Vacuna, contra la hepatitis A*
 - reservorio, [440](#)
 - vías de transmisión, [440](#)
- Hepatitis B
- acción agentes físicos y químicos, [442](#)
 - antígenos y anticuerpos, [443c](#)
 - características, [441](#), [441c](#), [446c](#)
 - diagnóstico, [444](#)
 - epidemiología, [443](#)
 - estructura, [441f](#)
 - fuente de infección, [443](#)
 - inmunización activa, [444](#)
 - inmunización pasiva, [444](#)
 - patogenia, [442](#)
 - profilaxis, [444](#), Véase también *vacuna contra la hepatitis B*
 - reservorio, [443](#)
 - vías de transmisión, [443](#)
- Hepatitis C
- características, [444](#), [446c](#)
 - diagnóstico, [445](#)
 - epidemiología, [444](#)
 - patogenia, [444](#)
 - profilaxis, [445](#)
- Hepatitis D
- características, [445](#), [446c](#)
 - diagnóstico, [445](#)
 - esquema, [445f](#)
 - patogenia, [445](#)
 - profilaxis, [445](#)
- Hepatitis E
- características, [446](#), [446c](#)
 - patogenia, [446](#)
- Hepatitis G, [446](#)
- Herpesviridae, familia, [419](#)
- clasificación, [419](#), [419c](#)
- Heterótrofos, microorganismos, [46](#)
- HEV, [446](#)
- HHV, [429](#)
- Hialuronidasa, [349](#)
- Hipersensibilidad
- tipo I, [202](#), [202f](#)
 - - etapa desencadenante, [203f](#)
 - tipo II, [204](#)
 - tipo III, [204](#)
 - tipo IV, [205](#), [205f](#)
 - tipos, [200f](#)
- Histoparásitos, [97](#)
- Histoplasma capsulatum*, [90](#), [405](#)
- características, [405](#)
 - cultivo, [405](#)
 - hábitat, [405](#)
- Histoplasmosis, [405](#)
- agente etiológico, [405](#)
 - causas predisponentes, [406](#)
 - definición, [405](#)
 - epidemiología, [406](#)
 - evolución, [406](#), [406f](#)
 - fuente de infección, [406](#)
 - patogenia, [406](#)
 - vía de penetración, [406](#)
- Histoplasmosis bucal
- características, [407](#)
 - diagnóstico, [407](#)
 - diagnóstico de laboratorio, [407](#)
 - respuesta inmune, [407](#)
 - tratamiento, [408](#)

- Holoenzima, [50](#)
 Holozoico(s), [98](#)
 Hongos
 - importancia médica, [84c](#)
 - unicelular y pluricelulares, [81c](#)
 Hospedador(es)
 - accidentales, [97](#)
 - definitivo, [97](#)
 - intermedio, [97](#)
 - normal, [97](#)
 - paraténico, [97](#)
 - susceptibles, [219](#)
 - vicariante, [97](#)
 Hospedero(s), [97](#), Véase también *Hospedador(es)*
 HPV, [433](#)
 HSV-1, [420](#), Véase también *Virus herpes simplex*
 Huésped(es), [97](#), Véase también *Hospedador(es)*
- I**
 Idoxiuridina, [128](#)
 Impétigo, [350](#)
 Implantes fracasados, [317](#)
 Incineración, [136](#)
 Inclusiones bacterianas, [25](#)
 Índice féenolico, [117](#)
 Indiferencia, [129](#)
 Infecciones
 - parasitarias, [97](#)
 - virales, [419](#)
 - - abortivas, [69](#)
 Infestación, [97](#)
 Inmunidad
 - adaptativa o específica, [150](#)
 - - fases, [185](#)
 - definición, [150](#)
 - innata o inespecífica, [150](#)
 - - barreras naturales, [150](#)
 - - características, [150](#)
 - - celulares, [151](#)
 - - factores humorales, [151](#)
 - - lisozima, [150](#)
 - - membranas mucosas, [150](#)
 - tipos, [150](#)
 Inmunidad de la cavidad bucal, [226f](#)
 - componentes inmunológicos, [227c](#)
 - dominio gingival, [227](#)
 - dominio salival, [226](#)
 - IgA e IgG protectoras, [228f](#)
 Inmunización pasiva artificial, [520](#)
 Inmunodeficiencia
 - primaria, [198](#), [198c](#)
 - - agammaglobulinemia, [199](#)
 - - combinada severa, [199](#)
 - - diagnóstico, [201](#)
 - - selectiva de IgA, [200](#)
 - - síndrome de Di George, [198](#)
 Inmunofluorescencia
 - directa, [587](#), [587f](#)
 - indirecta, [587](#), [587f](#)
 Inmunoglobulina
 - A secretoria, [173f](#)
 - - síntesis, [170f](#)
 - características, [175c](#)
 - D, [175](#)
 - E, [175](#)
 - G, [172](#), [172f](#)
 - M, [173](#)
- Inmunoprofilaxis, [513](#), Véase también *Vacunas*
 Inóculo, [51](#)
 Integrinas, [153](#), [154c](#)
 Integrones, [57](#)
 Interferencia viral, [70](#)
 Interferón α , [128](#)
 Islas de patogenicidad, [57](#)
 Isoniacida, [125](#)
- J**
 Jabones, [113](#)
 Jarra de anaerobiosis, [531](#), Véase también *Cultivos, anaerobios*
- K**
 Kinyoun, coloración, [547](#)
- L**
 Laboratorio microbiológico
 - ambiente de trabajo, [526](#)
 - instrumental y equipos, [528](#), [528c](#)
 - maniobras básicas, [526f](#)
 - normas de seguridad e higiene, [525](#)
 - protección personal, [527](#)
 - trabajo propiamente dicho, [527](#)
Lactobacillus, [239](#)
Leishmania, especies, [459](#), [460](#)
 - ciclo vital, [460f](#)
 - morfología, [460](#)
 Leishmaniasis
 - características, [459](#)
 - clínica, [460](#)
 - diagnóstico, [461](#)
 - diagnóstico diferencial, [462](#)
 - epidemiología, [460](#)
 - inmunología, [461](#)
 - patogenicidad, [461](#)
 - profilaxis, [462](#)
 - tratamiento, [462](#)
 Lepra, [371](#), Véase también *Mycobacterium leprae*
Leptotrichia, [243](#)
 Leucocidina, [354](#)
 Leucoderivados, [545](#)
 Levanos, [251](#)
 Limpieza, [108](#)
 Lincomicina, [126](#)
 Linfocitos B
 - activación, [192](#)
 - maduración, [177](#), [177f](#)
 - receptor BCR, [178f](#)
 Linfocitos CD4
 - diferenciación, [190f](#)
 - linaje, [191f](#)
 Linfocitos T
 - activación, [188f](#)
 - maduración, [180](#), [181f](#)
 - receptor T, [179](#)
 Liofilización, [137](#), [559](#)
 Lípido A bacteriano, [18](#)
 Lipopolisacáridos bacterianos, [18](#)
 Lipoproteinasas, [349](#)
 Lisogenia, [72](#)
 Lisozima, [18](#)
 - del fago, [71](#)
 Lofótricas, bacterias, [23](#)
- M**
 Macroconidios, [83](#)
 Maduración y liberación viral, [69](#)
 Magnetosomas, [25](#)
 Mal de Pott, [367](#)
 Malaria, [475](#), Véase también *Paludismo*
 MALT, Véase *Tejido linfoideo asociado a mucosas (MALT)*
 Mancha blanca, [257](#)
 Mango de Kolle, [530](#)
Mastigophora, [99](#)
 Matraz, [529](#)
 Mecanismo de transmisión, [217](#)
 Mecanismos de agresión de los microorganismos, [219](#)
 Mecanismos líticos, [156c](#)
 Mechero de Bunsen, [530](#)
 Medios de cultivo
 - aislamiento, [51](#)
 - artificiales, [49](#)
 - clasificación, [49](#), [552](#), [552c](#)
 - complejos, [51](#)
 - comunes, [51](#), [553](#)
 - condiciones, [551](#)
 - conservación, [51](#)
 - constituyentes, [552](#)
 - de transporte, [553](#)
 - diferenciales, [51](#), [553](#)
 - enriquecidos, [51](#), [553](#)
 - indicadores, [51](#)
 - líquidos, [49](#), [552](#)
 - mínimos, [51](#)
 - naturales, [49](#)
 - selectivos, [51](#), [553](#)
 - semisólidos, [51](#)
 - sintéticos, [51](#)
 - sólidos, [49](#), [552](#)
 - transporte, [51](#)
 Membrana citoplasmática
 - bacteriana, [22f](#)
 - - funciones, [21](#)
 - - mesosomas, [21](#)
 - micótica, [79](#)
 Meningococo, [360](#), Véase también *Neisseria meningitidis*
 Mesófilos, microorganismos, [48](#)
 Mesosomas, [21](#)
 Metabolismo bacteriano, [49](#)
 Metabolismo fúngico, [87](#)
 Metales pesados
 - acción oligodinámica, [114](#)
 - mecanismo de acción, [114](#)
Metazoa, [101](#)
 Meticilina, [125](#)
 Método(s) de conservación, [134c](#)
 - por frío
 - - congelación, [137](#)
 - - liofilización, [137](#)
 - - refrigeración, [137](#)
 Metronidazol, [126](#), [128c](#)
 Miasis, [96](#)
 - agentes etiológicos, [479](#)
 - ciclo evolutivo, [479](#)
 - clínica, [480](#)
 - definición, [479](#)
 - prevención, [480](#)
 - tipos, [479](#)
 - tratamiento, [480](#)
 Micelio

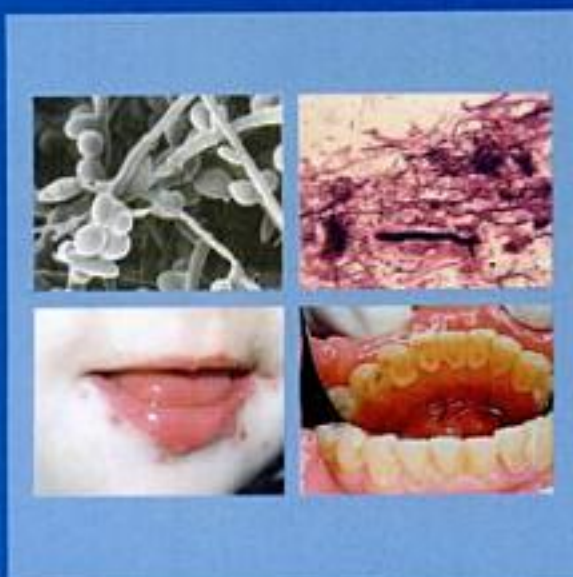
- pluricelular, [80](#)
 - unicelular, [80](#)
 - Micetismo, [88](#), [88c](#)
 - Micobacterias, [21](#), [365](#)
 - atípicas, [370](#)
 - complejo MAI, [370](#)
 - Micobacteriosis, [370](#)
 - Micoplasmas, en la cavidad bucal, [33](#), [34](#)
 - Micosis
 - concepto, [78](#)
 - endémicas, [90](#)
 - oportunistas, [90](#)
 - profundas, [89](#)
 - subcutáneas, [90](#)
 - superficiales, [89](#)
 - Micotoxicosis, [88](#), [88c](#)
 - Microbicida, acción, [110](#)
 - Microbiostática, acción, [110](#)
 - Microbiota, [214](#)
 - bucal
 - - complicaciones, [338](#)
 - - eliminación espontánea, [337](#)
 - - eliminación inducida, [337](#)
 - - factores determinantes, [232](#)
 - - factores inhibidores, [228c](#)
 - - factores promotores, [228c](#)
 - - infecciones por anaerobios, [339](#)
 - - origen y desarrollo, [227](#)
 - - salud periimplantaria
 - - vías de propagación, [338](#)
 - conductos radiculares, [321](#), [322c](#)
 - - determinantes de virulencia, [322](#)
 - - toma de muestra, [325](#)
 - gingivitis, [285](#), [285f](#)
 - - en el embarazo, [285](#)
 - - en la pubertad, [285](#)
 - - necrosante, [286f](#)
 - - ulceronecrosante, [286](#)
 - periimplantitis, [316](#), [316c](#)
 - periodontitis
 - - periodontitis agresiva, [286](#), [287f](#)
 - - periodontitis crónica, [286](#), [286f](#)
 - salud, [285](#)
 - salud periimplantaria, [314](#)
 - Micrococcus*, [353](#)
 - Microconidios, [83](#)
 - Microerófilos, microorganismos, [49](#)
 - Microincinerador de asas, [530](#)
 - Micrómetro, [6](#)
 - Microorganismos
 - anaerobios
 - - aerotolerantes, [49](#)
 - - facultativos, [49](#)
 - - moderados, [49](#)
 - - obligados, [49](#)
 - clasificación, [214c](#)
 - moderados, [49](#)
 - Microscopio(s)
 - confocal, [538](#), [538f](#)
 - de campo oscuro, [536](#), [536f](#)
 - de contraste de fase, [536f](#), [537](#)
 - de efecto túnel, [541](#)
 - de epifluorescencia, [538](#), [538f](#)
 - de fluorescencia, [537](#)
 - de fuerza atómica, [541](#)
 - electrónico
 - - de barrido, [541](#)
 - - de transmisión, [540](#)
 - multifotón, [539](#)
 - óptico compuesto, [535f](#), [543](#)
 - - manejo y uso, [535](#)
 - - mantenimiento, [536](#)
 - - sistema de iluminación, [534](#)
 - - sistema mecánico, [534](#)
 - - sistema óptico, [534](#)
 - Moléculas de adhesión, [153](#), [154c](#)
 - Mollicutes*, [31](#)
 - acción patógena, [33](#)
 - características, [31](#), [31c](#)
 - citoesqueleto, [32](#)
 - clasificación, [31](#), [32c](#)
 - cultivos, [33](#)
 - estructura celular, [32](#)
 - hábitat, [33](#)
 - reproducción, [32](#)
 - Monotricas, bacterias, [23](#)
 - Moraxella catarrhalis (Nesisseria)*
 - Morfologías bacterianas, [11](#)
 - Mortero y pilón, [530](#)
 - Mucorales*, [90](#)
 - Mucositis, [314](#)
 - Muestras
 - causas de fracaso, [491](#)
 - causas de rechazo, [491](#)
 - diagnóstico de laboratorio, [490f](#)
 - - directo, [490](#)
 - - indirecto, [491](#)
 - envío, [489](#)
 - instrumental, [486](#), [486f](#)
 - interpretación, [490](#)
 - obtención de, [486](#)
 - representativas, [486](#)
 - solicitud de diagnóstico, [488](#)
 - Mureína, [18](#)
 - Mutanos, [251](#)
 - Mutualismo, [95](#)
 - Mycobacteriaceae*, [365](#)
 - Mycobacterium bovis*, [366](#)
 - Mycobacterium leprae*, [371](#)
 - Mycobacterium tuberculosis*, [110](#)
 - características, [366](#), [367c](#)
 - estructura, [366](#)
 - Mycobacterium ulcerans*, [370](#)
 - Mycoplasma hominis*, [33](#)
 - Mycoplasma orale*, [34](#)
 - Mycoplasma pneumoniae*, [33](#)
 - Mycoplasma salivarium*, [34](#)
 - Mycoplasmas*, [31](#)
- N**
- Naftifina, [127](#)
 - Nanobacterias, [43](#)
 - Nanómetro, [6](#)
 - Neisseria*
 - características, [359](#)
 - hábitat, [359](#)
 - Neisseria gonorrhoeae*
 - características, [361](#)
 - clínica, [361c](#), [362](#)
 - diagnóstico, [362](#)
 - epidemiología, [362](#)
 - fuente de infección, [361](#)
 - patogenicidad, [361](#)
 - período de incubación, [361](#)
 - prevención, [362](#)
 - transmisión, [361](#)
 - tratamiento, [362](#)
 - Neisseria meningitidis*
 - características, [360c](#)
 - clínica, [360](#), [361c](#)
 - diagnóstico, [361](#)
 - epidemiología, [360](#)
 - fuente de infección, [360](#)
 - patogenicidad, [360](#)
 - período de incubación, [360](#)
 - prevención, [361](#), Véase también *Vacuna(s), antimeningocócica*
 - transmisión, [360](#)
 - tratamiento, [361](#)
 - vía de penetración, [360](#)
 - Nematode*, [101](#)
 - Neumonía, [356](#)
 - Neutralización, técnica, [590](#)
 - Neutrófilos, [151](#)
 - Nistatina, [125](#), [127](#)
 - Nitrato de plata, [115](#)
 - Nitrofuranos, [126](#)
 - Nivel microbiológico, [110](#), [112c](#)
 - alto, [112](#)
 - bajo, [112](#)
 - intermedio, [112](#)
 - Nocardia*, [333](#), [365](#)
 - Norfloxacina, [126](#)
 - Núcleo micóticos, [79](#)
 - Nucleocápside, [66](#)
 - Nucleoide bacteriano, [23](#)
 - Nucleoide viral, [66](#)
 - Nutrientes esenciales, [46](#)
- O**
- Observación de microorganismos en fresco, [543](#)
 - Obtención de muestras en el consultorio, [485](#)
 - Oligoelementos, [46](#)
 - Oncogén(es), [71](#), [434](#), [435](#)
 - Operón(es), [56](#)
 - Oponinas, [151](#)
 - Órganos linfoides
 - amígdalas, [168](#)
 - bazo, [167](#), [168f](#)
 - ganglios linfáticos, [167](#), [169f](#)
 - médula ósea, [165](#)
 - primarios, [165](#)
 - secundarios, [165](#)
 - - BALT, [165](#)
 - - GALT, [165](#)
 - - MALT, [165](#)
 - timo, [166](#), [167f](#)
 - Orientia tsutsugamushi*, [39](#)
 - Osteomielitis, [356](#)
 - Oxazolidona, [126](#)
- P**
- PABA, [126](#)
 - Paludismo
 - clínica, [476](#)
 - definición, [475](#)
 - diagnóstico, [476](#)
 - epidemiología, [476](#)
 - etiología, [475](#)
 - patogenicidad, [476](#)
 - profilaxis, [476](#)
 - tratamiento, [476](#)
 - PAMP. Véase *Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP)*

- Pandemia, [216](#)
Paracoccidioides brasiliensis, [90](#)
 - características, [409](#)
 Paracoccidioidomicosis, [409](#)
 - agente etiológico, [409](#)
 - área endémica, [409](#)
 - definición, [409](#)
 - diagnóstico, [411](#)
 - epidemiología, [409](#)
 - fuente de infección, [410](#)
 - oral, [410](#)
 - patogenicidad, [410](#)
 - período de incubación, [410](#)
 - tratamiento, [411](#)
 - vía de penetración, [410](#)
 Parasitismo, [96](#)
 Parásito(s)
 - facultativos, [96](#)
 - heteroxénicos, [459](#)
 - obligados, [96](#)
 - obligados periódicos, [96](#)
 - obligados permanentes, [96](#)
 - obligados temporarios, [96](#)
 Parasitosis, [97](#)
 - medidas preventivas, [101](#)
 - métodos de diagnóstico, [98](#)
 - transmisión
 - - mecanismo directo, [97](#)
 - - mecanismo indirecto, [97](#)
 Pared(es) celular(es)
 - bacterianas, [20f](#)
 - - diferencias entre grampositivas y negativas, [19c](#)
 - micótica, [79](#)
 PAS, Véase *Ácido(s), paraaminosalicílico (PAS)*
 Pasteurización, [134](#)
 Patogenicidad
 - definición, [220](#)
 - islas de, [57](#)
 Patógenos
 - comensales, [60](#)
 - oportunistas, [60](#)
 - principales, [60](#)
 Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), [150](#)
 PCR, Véase *Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)*
Pelliculidae, [96](#)
 Penetración viral
 - directa, [68](#)
 - endocitosis, [68](#)
 - fusión, [68](#)
 Penicilina, [125](#)
 Penicilinas, [125](#)
Penicillium, [88](#)
 Peplómeros, [66](#)
 Peptidoglucano, [18](#)
Peptostreptococcus, [241](#)
 Periimplantitis
 - características, [314](#)
 - estudio microbiológico, [317](#)
 Periodonto, estructuras, [276](#), [276f](#)
 Peritricas, bacterias, [23](#)
 Peróxido de hidrógeno, [116](#)
 - cualidades, [117c](#)
 - diluciones, [117c](#)
 Pián o frambesia, [376](#)
 Picnidios, [83](#)
 Piconosporas, [84](#)
 Pili, [24](#)
 Pilina, [24](#)
 Pinta, [376](#)
 Pipetas, [528f](#)
 - de Pasteur, [529](#)
 - graduadas, [528](#)
 - micropipetas, [528](#)
 Plásmidos, [25](#), [57](#)
Plasmodium, [101](#)
Plasmodium falciparum, [475](#)
 Plasmólisis, [48](#)
 Plelmintos, [101](#)
 Plecténquima, [81](#)
 Pleomorfismo, [13](#)
 Polianiónicas, sustancias, [128](#)
 Polimixina B, [125](#)
 Polisacárido A, [354](#)
 Polisacárido extracelular, [23](#)
 Porinas, [18](#)
 Porosporas, [83](#)
Porphyromonas, [236](#), [339](#)
 - *gingivalis*, [278](#), [284c](#), [287](#), [314](#), [316](#)
 Portaobjetos, [530](#)
 Posaconazol, [127](#)
 Postulados
 - de Koch, [216](#)
 - de Socransky, [277](#)
 PPD, [368](#)
 Prerequisite, [99](#)
 Presentación antigénica, [185](#), [187f](#)
 - endógena, [187](#)
 - exógena, [186](#)
 Preservación de microorganismos, [558](#)
 Presión osmótica, [137](#)
Prevotella, [236](#)
 Prión(es), [71](#)
 - características, [72c](#)
 Probeta, [529](#)
 Procápside, [66](#)
Propionibacterium, [242](#)
 Protámeros, [66](#)
 Proteína(s)
 - C reactiva, [151](#)
 - inductoras, [56](#)
 - represoras, [56](#)
 - sensoras, [56](#)
 - virales
 - - tardías, [69](#)
 - - tempranas, [69](#)
 Proteobacterias
 - alfa, [237](#)
 - beta, [237](#)
 - - *Eikenella*, [237](#)
 - - *Kingella*, [237](#)
 - - *Neisseria*, [237](#)
 - delta, [237](#)
 - épsilon, [237](#)
 - - *Campylobacter*, [237](#)
 - - *Helicobacter*, [237](#)
 - - *Wolinella*, [237](#)
 - gamma, [237](#)
 - - *Aggregatibacter*, [237](#)
 - - *Haemophilus*, [237](#)
 Proto-oncogenes, [434](#)
 Protoplasto, [8](#)
 Protozoos
 - características, [98](#)
 - morfología, [100f](#)
 Provirus, [71](#)
 Prueba de Sabin-Feldman, [468](#)
 Prueba de Mantoux, [368](#)
 Prueba(s)
 - de sensibilidad a combinaciones de antimicrobianos, [569](#)
 - elipsométrica, [568](#)
 - para bacterias anaerobias, [570](#)
 - para detectar beta-lactamasas, [570](#)
 - para hongos, [570](#)
 - para micobacterias, [569](#)
 - para sensibilidad de parásitos, [571](#)
 - para sensibilidad de virus, [571](#)
Pseudomonas aeruginosa, [110](#)
 Puertas de entrada de los microorganismos, [218](#)
- ## Q
- Quimiclave, [143](#)
 Quimioautótrofos, [46](#)
 Quimiocinas, [154](#)
 Quimioheterótrofos, [46](#)
 Quimioterápicos, [109](#), [124](#)
 Quimiótrofos, [46](#)
 Quininas, [151](#)
 Quinolonas, [126](#)
 Quistes, [99](#), [100f](#)
 Quorum sensing, [268](#), [280](#)
- ## R
- Radiaciones, [137](#)
 - ionizantes, [138](#)
 - ultravioletas, [138](#)
 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), [495](#)
 Receptores de reconocimiento de patrones (RRP), [150](#)
 Recuperación del instrumental, [596f](#)
 - acondicionamiento, [598](#)
 - almacenamiento, [600](#)
 - descontaminación, [595](#)
 - enjuague, [597](#)
 - esterilización, [599](#)
 - - por calor húmedo, [599](#)
 - - por calor seco, [600](#)
 - lubricación, [597](#)
 - por lavado
 - - manual, [596](#)
 - - mecánico, [597](#)
 - - ultrasonico, [597](#)
 - propiedades del envoltorio, [598](#)
 - secado, [597](#)
 - tipos de envoltorios, [598f](#)
 Refrigeración, [137](#)
 Reino(s)
 - Animalia, [96c](#)
 - clasificación, [4c](#)
 - dominios, [4](#), [5c](#)
 - Fungi, [78](#), [78c](#)
 - Procariota, [11](#)
 - Protista, [96c](#)
 Replicación viral, etapas, [68](#)
 Reservorio, [217](#)
 Reservorios, [97](#)
 Resistencia a los antimicrobianos
 - adquirida, [129](#)
 - cruzada, [129](#)
 - natural, [129](#)

- Respuesta inmune
 - alterada, 197
 - humoral, 191
 - inespecífica
 - - etapas, 153f
 - - mecanismos, 152
 - - migración de fagocitos, 152f
 - primaria y secundaria, 193, 193f
 Ribosomas
 - bacterianos, 22
 - micóticos, 79
Rickettsia prowazekii, 38
Rickettsia typhi, 39
 Rickettsias
 - acción patógena, 38
 - características, 38c
 - clasificación, 38
 - cultivos, 38
 - estructura celular, 37
 - prevención, 39
 - reproducción, 38
 Rickettsiosis, 37
 Rifampicina, 126
 Rizoides, 81
Rothia, 242
 RRP, Véase *Receptores de reconocimiento de patrones (RRP)*
- S**
- Saliva
 - composición, 231
 - funciones, 231, 231f
 - proteínas salivales, 230
 Salud periimplantaria, 314
 Saneamiento, 108
 Sarcodina, 99
 Sarcoma de Kaposi, 429
 Selectinas, 153, 154c
Selenomona, 241
 Sensibilidad a los agentes químicos
 - bacilos ácido alcohol resistentes, 110
 - bacterias vegetativas, 110
 - esporos bacterianos, 111
 - hongos, 111
 - priones, 111
 - virus, 111
 Sepsis, 108
 Seudohifas, 81
 Seudomicelio, 81
 Seudovirión, 71
 Sicrófilos, microorganismos, 48
 Siembra, 51, 556
 - por agotamiento, 557, 557f
 - por diluciones, 557, 558f
 - por diseminación, 557, 557f
 Siflides, 374
 Sífilis
 - clínica, 374
 - congénita, 375
 - diagnóstico
 - - pruebas no treponémicas, 375
 - - pruebas treponémicas, 376
 - epidemiología, 374
 - inmunidad, 375
 - patogenicidad, 374
 - prevención, 376
 - primaria, 374
 - secundaria, 374
 - terciaria, 375
 - tratamiento, 376
 Signos, definición, 216
 Simbiosis, 95
 Simetría viral, 66
 Simpoduloporas, 83
 Sincicios, 70
 Síndrome
 - de Tucídides, 356
 - del shock tóxico, 356
 Sinergismo, 129
 Síntesis de Ig A secretoria, 170f
 Síntomas, definición, 216
 Sistema del complemento, 158, Véase también *Complemento*
 Sistemática bacteriana, 5
 Soluciones enzimáticas, 113
 - cualidades, 113c
Staphylococcus, 353, Véase también *Estafilococos*
 - *aureus*, 238, 340, 354, 357
 - *epidermidis*, 238, 354, 357
Stomatococcus, 238, 353
Streptococcus, 240c, 347, Véase también *Estreptococos*
 - grupo *anginosus*, 239
 - grupo *mitis*
 - - *cristatus*, 239
 - - *infantis*, 239
 - - *mitis*, 238
 - - *oralis*, 238
 - - *peroris*, 238
 - grupo *mutans*, 340
 - - *cricketus*, 238
 - - *mutans*, 238
 - - *rattus*, 238
 - - *sobrinus*, 238
 - grupo *salivarius*
 - - *salivarius*, 239
 - grupo *sanguinis*
 - - *gordonii*, 239
 - - *parasanguinis*, 239
 - - *sanguinis*, 239
 - *pyogenes*, 238
 - *sanguis*, 340
Streptococcus pneumoniae, 351
 Sucesión ecológica bucal
 - alogénica, 228
 - autógena, 228
 Sueroterapia, 520
 Sulfas, 128c
 Superantígenos, 171
 Sustancia laxa, 23
 Sustantividad, 110
- T**
- Talo(s)
 - pluricelular, 78, 80
 - tipos, 81f
 - unicelular, 78, 80
 Tamiflu, 128
Tannerella, 236
 - *forsythia*, 288
 Tasa de incidencia, 217
 Tasa de prevalencia, 217
 Técnica(s)
 - celulares, 591
 - de aglutinación, 582, 582f, 583f
 - de contraelectroforesis, 581, 581f
 - de fijación del complemento, 584, 585f
 - de hemoaglutinación, 584f
 - de inmunodifusión radial, 580f
 - de inmunoelectroforesis, 581, 581f
 - de inmunomarcación, 586, 586c
 - de Oudin-Ouchterlony, 580, 580f
 - de precipitación, 577, 577f
 - - clasificación, 578c
 - del látex, 584
 - humorales
 - - afinidad, 574
 - - definición, 574
 - - especificidad, 575
 - - sensibilidad, 574
 - - titulación, 575, 576f
 - inmunológicas, 573
 - moleculares
 - - amplificación "in vitro"
 - - - PCR, 495
 - - - RAPD, 497
 - - digestión del DNA, 497
 - - electroforesis, 494
 - - electroforesis en campo pulsante, 495
 - - hibridación, 497
 - - preparación de las muestras, 494
 - - secuenciación, 498
 Tegumento viral, 66
 Tejido linfocitario asociado al intestino (GALT), 168
 Tejido linfocitario asociado a los bronquios (BALT), 168
 Tejido linfocitario asociado a mucosas (MALT), 168
 Tejido linfocitario asociado a piel, 170
 Termodesinfección, 135
 Termófilos, microorganismos, 48
 Test de Bowie y Dick, 602f
 Tétanos, 387
 - clínica, 387
 - diagnóstico, 387
 - incubación, 387, Véase también *Clostridium tetani*
 - prevención, 387, Véase también *Vacuna antitetánica*
 - tratamiento, 387
 Tetraciclina, 126
 Tiempo de generación bacteriana, 47
 Tinción de Fontana-Tribondeau, 547
 Tiocarbamato, 127
 Tioftato, 127
 Tipificación microbiana, 13
 Tobramicina, 126
 Toxina
 - botulínica, 386
 - eritrógena, 348
 - pirogénica, 355
Toxoplasma gondii, 101, 465
 - características, 465
 Toxoplasmosis
 - cadena epidemiológica, 467f
 - ciclo evolutivo, 466f
 - clínica, 466
 - contagio, 465
 - diagnóstico, 468
 - manifestaciones bucales, 468
 - prevención, 469
 - reservorio, 465

- Toxoplasmosis (*Cont.*)
 - tratamiento, [468](#)
- Transducción, [60](#)
- Transformación, [58](#), [58f](#)
 - celular, [71](#)
- Transposones, [25](#), [57](#)
- Trasplante, [558](#)
- Trematodos, [101](#)
- Treponema, [236](#)
 - *carateum*, [376](#)
 - *endemicum*, [376](#)
 - *pallidum*, [373](#)
 - *pertenue*, [376](#)
- Treponema denticola*, [284c](#)
- Trichomonas tenax*, [99](#)
- Trichomonas vaginalis*, [98](#)
- Tricomoniasis, [99](#)
- Trifluridina, [128](#)
- Trimetoprima, [127](#)
- Tripanosoma cruzi*, [471](#)
 - morfología, [472f](#)
- Tripanosomiasis americana, [471](#),
 Véase también *Enfermedad de Chagas*
- Trofozoítos, [98](#), [100f](#)
- Tropismo viral, [68](#)
- Tuberculosis
 - clínica, [367](#)
 - control, [369](#)
 - cuadro clínico, [368c](#)
 - diagnóstico, [368](#)
 - epidemiología, [367](#)
 - factores de riesgo, [366](#)
 - fuente de infección, [366](#)
 - inmunidad, [367](#)
 - inmunización, [369](#)
 - tratamiento, [369](#)
 - vía de penetración, [366](#)
- Tubos, [528f](#)
 - de centrífuga, [528](#)
 - de ensayo, [528](#)
- U**
- Ultrasonido, [138](#)
- Unidades formadoras de colonias, [48](#)
- Unión de Bayer, [18](#)
- Ureaplasma*, [31](#)
- Ureaplasma urealyticum*, [33](#)
- V**
- Vacuna(s)
 - adyuvante, [514](#)
 - antiinfluenza o antigripal, [518](#)
 - antimeningocócica, [518](#)
 - antineumocócica, [518](#)
 - antipalúdica, [519](#)
 - antipoliomielítica Sabin, [517](#)
 - antipoliomielítica Salk, [517](#)
 - antirrábica, [519](#)
 - antirrubéolica, [519](#)
 - antisarampionosa, [518](#)
 - antiurliana, [519](#)
 - autovacunas, [520](#)
 - BCG, [518](#)
 - calendario nacional, [516c](#)
 - causas de fallas, [520](#)
 - clasificación, [514](#)
 - complicaciones, [515](#)
 - componentes, [514](#)
 - condiciones ideales, [515](#)
 - contra el carbunco, [519](#)
 - contra el cólera, [519](#)
 - contra la difteria y el tétanos, [516](#)
 - contra la fiebre hemorrágica argentina, [519](#)
 - contra la hepatitis A, [517](#)
 - contra la hepatitis B, [517](#)
 - contra el HIV, [520](#)
 - contra el virus varicela-zoster, [519](#)
 - contraindicaciones, [515](#)
 - definición, [513](#)
 - etapas en la preparación, [520](#)
 - métodos de obtención, [514](#)
 - otras, [520](#)
 - tipos de, [515](#)
 - triple bacteriana, [518](#)
 - vías de administración, [515](#)
- Vancomicina, [125](#)
- Vapor
 - con presión, [136](#)
 - de agua, [135](#)
 - sin presión o fluente, [135](#)
- Vaso de precipitación, [529](#)
- VDRL, [375](#)
- Vector, [97](#)
- Veillonella*
 - *alcalescens*, [241](#)
 - *atypica*, [241](#)
 - *dispar*, [241](#)
 - *parvula*, [241](#)
- Vellosidades, [24](#)
- Verrugas, [435](#)
- Vía alterna, complemento, [158](#), [160f](#),
 Véase también *Complemento*
- Vía clásica, complemento, [158](#), [160f](#),
 Véase también *Complemento*
- Vía de las lectinas, complemento,
[159](#), [160f](#), Véase también
Complemento
- Vías anfibólicas, [49](#)
- Vías metabólicas, [49](#)
- Vías de salida, microorganismos, [219](#)
- Vidarabina, [128](#)
- Vinchucas, [471](#)
- Virión, [71](#)
- Viroide, [71](#)
- Viropexis, [68](#)
- Virosis, [70](#)
- Virulencia, definición, [220](#)
- Virus
 - acción citopatogénica, [70](#)
 - atemperados, [69](#)
 - características, [65](#), [72c](#)
 - clasificación, [70](#)
 - composición química, [65](#)
 - cultivos, [70](#)
 - defectivos, [71](#)
 - definición, [65](#)
 - desnudos, [66](#), [66f](#)
 - envueltos, [66](#), [66f](#)
 - Epstein-Barr, [428](#)
 - - características, [428](#)
 - - clínica, [428](#)
 - - diagnóstico de laboratorio, [428](#)
 - - patogenicidad, [428](#)
 - - profilaxis, [429](#)
 - estructura, [66](#), [66f](#)
 - herpes humanos [6.7](#) y [8](#), [429](#)
 - herpes simplex
 - - diagnóstico de laboratorio, [425](#)
 - - latencia, [424](#)
 - - replicación viral, [422f](#)
 - herpes simplex-1 y 2
 - - características, [420](#)
 - - epidemiología, [421](#)
 - - estructura, [420f](#)
 - - patogenicidad, [423](#), [423f](#)
 - - profilaxis, [426](#)
 - - recurrencia, [424](#)
 - - replicación viral, [421](#)
 - interferencia viral, [70](#)
 - moderados, [69](#)
 - oncogénicos, [70](#)
 - papiloma humano
 - - características, [433](#)
 - - clínica, [435](#)
 - - diagnóstico de laboratorio, [436](#)
 - - importancia odontológica, [435](#)
 - - patogenicidad, [434](#)
 - - profilaxis, [436](#)
 - parentales, [70](#)
 - replicación, [68](#), [69f](#)
 - salvajes, [70](#)
 - sensibilidad, [68](#)
 - simetrías, [66](#), [66f](#)
 - tamaño, [65](#)
 - varicela-zoster, [426](#)
 - - características, [426](#)
 - - diagnóstico de laboratorio, [427](#)
 - - patogenicidad, [426](#)
 - - profilaxis, [427](#), Véase también
vacuna contra virus varicela-zoster
 - vías transmisión, [70](#)
- Voriconazol, [127](#)
- Z**
- Ziehl-Neelsen, coloración, [368](#)
- fundamento, [547](#)
- técnica, [547](#)
- Zona impacto primario en la célula
 microbiana, [110](#), [111c](#)
- Zooparasitosis, vías de infección, [97](#)

Negróni



Microbiología Estomatológica

*Fundamentos
y guía práctica*

2ª EDICIÓN

La primera edición de *Microbiología estomatológica* logró el difícil objetivo de reunir en un libro todos los temas de la enseñanza de esta disciplina. La segunda edición ha incorporado importantes novedades sobre genética bacteriana, métodos de diagnóstico, medidas terapéuticas y un tema de candente actualidad que ha revolucionado las ubicaciones taxonómicas de los microorganismos: el diagnóstico a través de la biología molecular. Otros aspectos destacables son:

- La estructura didáctica que describe los contenidos, los objetivos, e incluye un resumen y preguntas de autoevaluación en todos los capítulos.
- Los problemas y casos clínicos, útiles para el razonamiento aplicado a la práctica odontológica, con interrogantes y su respuesta al final del libro.
- La información precisa sobre las enfermedades infecciosas: microorganismos productores, fuentes y mecanismos de transmisión, reservorios, sensibilidad a los antimicrobianos, particularidades de distribución en áreas específicas, causas predisponentes, síntomas relevantes, así como diagnóstico y tratamiento, y medidas preventivas eficaces.

La jerarquización de temas como el SIDA y otras causas de inmunosupresión, las enfermedades emergentes y los juicios por mala praxis condujeron a la necesidad de ampliar el conocimiento sobre las enfermedades infecciosas; la correcta utilización de los medios de esterilización, antisepsia y desinfección; y el empleo de vacunas y medicación antimicrobiana.

Dado que muchas veces las lesiones bucales constituyen los primeros indicios de afecciones sistémicas el odontólogo, como agente de salud, debe conocer los aspectos claves de las enfermedades transmisibles que le permitirán orientar a sus pacientes, educarlos y derivarlos al profesional especializado.

Alumnos, docentes y odontólogos encontrarán en esta obra un libro actualizado, de consulta diaria y una guía didáctica, útil y completa sobre el ecosistema bucal, creada por una eximia maestra de la microbiología.

ISBN: 978-950-06-1584-6



9 789500 615846

EDITORIAL MEDICA
panamericana