



Identificación bioquímica de microorganismos presentes en prótesis

Removibles metálicas y acrílicas (estudio piloto)

Biochemical identification of microorganisms on metallic and acrylic removable dentures (pilot study)

C.D. Eyra Deysi Franco García

Q.F.B. Patricia Vidal Millán

Q.F.B. Pablo Juárez De Los Santos

C.D. Patricia Meneses Huerta

C.D. Eyra Deysi Franco García

Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza" UNAM¹

Laboratorio de Investigación en Odontología.

Resumen

Objetivo: Aislare e identificar por medio de pruebas bioquímicas que tipo de especies microbianas aerobias se encuentran en prótesis dentales removibles acrílicas y metálicas. **Material y métodos:** Se tomaron muestras de 10 prótesis dentales removibles acrílicas y 10 prótesis metálicas, se incubaron en B.H.I aislando los microorganismos en agar Sal y Manitol, Mitis Salivarius, Rogosa, y Sabouraud, e identificándolos por medio de rojo de fenol con lactosa, manitol, ribosa, sorbitol, xilosa, trehalosa, prueba de catalasa, reducción de nitratos, Voges Proskauer, y hemólisis.

Resultados: *S. mutans* 25%, *S. salivarius* 25%, *S. sobrinus* 10%, *S. milleri* 10%, *S. ferus* 5%, *S. epidermidis* 25%, *S. carnosus* 15%, *S. aureus* 15%, *S. lugdunensis* 10% y *S. shleiferi* subespecie *shleiferi* 5%, *L. fructivorans* 20%, *L. confusus* 10%, *L. fermentum* 5%, *L. brevis* 5%, *L. bavaricus* 5%, *L. casei* sub. *Pseudoplantarum* 5%, *L. murinus* 5%, *L. plantarum* 5%, *C. krusei* 30%, *C. albicans* 20% y *C. tropicalis* 10%.

Conclusiones: Los resultados obtenidos explican el valor de la prevención en el área odontológica y exponen la necesidad de enseñarles y explicarles a los pacientes la importancia de los hábitos de higiene bucal ya que cuando estos se realizan de manera correcta disminuyen el peligro de adquirir enfermedades bucales y sistémicas.

Abstract

Objective: Isolate and identify by means of biochemical tests that type of aerobic microbial species is on acrylic and metallic removable dentures. **Material and methods:** took samples of 10 acrylic removable dentures and 10 metallic dentures, these were incubated in B.H.I isolating the microorganisms in agar: Mannitol Salt, Mitis Salivarius, Rogosa, and Sabouraud, and identifying them by means of fenol red with lactose, mannitol, ribose, sorbitol, xilose, trehalose, catalase test, nitrate reduction, Vogues Proskauer, and hemolysis.

Results: *S. mutans* 25%, *S. salivarius* 25%, *S. sobrinus* 10%, *S. milleri* 10%, *S. ferus* 5%, *S. epidermidis* 25%, *S. carnosus* 15%, *S. aureus* 15%, *S. lugdunensis* 10% and *S. shleiferi* subspecies *shleiferi* 5%, *L. fructivorans* 20%, *L. confusus* 10%, *L. fermentum* 5%, *L. brevis* 5%, *L. bavaricus* 5%, *L. sub casei*. *Pseudoplantarum* 5%, *L. murinus* 5%, *L. plantarum* 5%, *C. krusei* 30%, *C. albicans* 20% and *C. tropicalis* 10%.

Conclusions: The obtained results explain the value of the prevention in the dentistry and expose the necessity to teach and explain to patients the importance of buccal hygiene habits since when these are carried out in a correct way they diminish the danger of acquiring buccal and systemic diseases.

Introducción

El uso de prótesis dentales se ha vuelto más común en la población independientemente del tipo de material; el odontólogo como prestador de servicios a la salud debe indicar a los pacientes portadores de prótesis su uso correcto, así como el tipo de cuidados que debe tener el paciente en su higiene bucal y la limpieza de la prótesis. En la prótesis se tiende a acumular placa microbiana, la cual está constituida por una matriz orgánica derivada de las glucoproteínas salivales y de los productos extracelulares, esta acumulación de placa microbiana se presenta sobre todo en prótesis de muchos años de uso y en zonas rugosas y porosas de las mismas; de hecho se ha mostrado que los acrílicos utilizados en odontología tienen mayor capacidad de adsorción de amilasa y albúmina.¹

Es así como, las rugosidades de la superficie del acrílico y la higiene defectuosa favorecen la adhesión de la placa microbiana subprotésica, penetrando los microorganismos dentro de la resina. De esta forma, la prótesis constituye un reservorio de microorganismos que facilita la aparición de estomatitis subprotésica, pero no solo de esta sino de muchas otras enfermedades.²

Es importante también señalar que no solo en prótesis hechas con resinas se pueden presentar microorganismos sino también en materiales metálicos.

En la cavidad bucal existen diversos tejidos, diversos ambientes y por supuesto diversas comunidades microbianas, es decir en la cavidad bucal existen diversos ecosistemas primarios que son constituidos por las comunidades microbianas en su hábitat específico junto con los elementos abióticos con los cuales los microorganismos están asociados.³ Los materiales dentales a pesar de no ser propios de los tejidos, se consideran como ecosistemas primarios por la frecuencia con que hoy en día se encuentran en cavidad bucal, más aún cuando existen afecciones relacionadas con su uso.

En la cavidad bucal existe una comunidad pionera que es la microbiota inicial y posteriormente por diversas circunstancias van modificándola hasta conseguir cierto grado de estabilidad en su composición a esto se le denomina comunidad clímax, de la misma manera se han descrito dos tipos de sucesiones: alogénica y autogénica. La sucesión alogénica son cambios en el hábitat debido a factores no microbianos como lo son el nacimiento, la erupción de los dientes, la vida adulta, la perdida de órganos dentales, el uso de prótesis, lo que significa que representa otra superficie sobre la que los microorganismos desarrollarán la colonización sobre todo porque se ha encontrado que la composición de los aminoácidos de la película adherida sobre las prótesis es muy similar a la película adherida sobre la superficie del esmalte.⁴ La sucesión autogénica es la sustitución de la microbiota en el hábitat debida a factores microbianos, así solo los más adaptados per-

Cuadro 1. Microorganismos que pueden estar presentes en prótesis dentales.

Microorganismo	Fermentación de Carbohidratos						Cat	Hem	Prueba VP	NO3
	man	sor	lac	tre	rib	xil				
Streptococcus										
S. salivarius	-	-	V+	V+	NR		-	ay	V+	
S. mutans	A	A	A	A	NR		-	y	+	
Staphylococcus										
S. aureus	A		A	A	A	-	V+	+	+	+
S. epidermidis	-		V	-	V	-	+	V	+	+W
Candida										
C. albicans			-	V		-				-
C. tropicalis			V	-		-				-

Man, manitol, sor, sorbitol, lac, lactosa, tre, trehalosa, rib, ribosa, xil, xilosa, NO3 reducción de nitratos, Cat, catalasa, Hem, hemólisis A, producción de ácido, V, variable, V+, variable por lo común positivo, NR, no se dispone de resultados, W, reacción débil.^{7,8,9,10,11}

sistirán en el hábitat modificado, mientras otros serán sustituidos.⁵

En las prótesis dentales ocurre lo que se llama unión física por atrapamiento de las bacterias, esto sucede en las zonas retentivas, en otros casos este atrapamiento se produce en la malla microbiana que se desarrolla en el curso de la formación de placas, sin que estos microorganismos atrapados dispongan de mecanismos propias de adherencia.⁶

El tipo de microorganismos que se encuentran en las prótesis dentales removibles, está influenciado por varios factores, entre ellos por el tiempo de uso que esta tenga. Se ha establecido que en sujetos con prótesis nuevas (sobre una semana de instaladas), no les fue aislada *C. albicans*, mientras que en sujetos con prótesis muy usadas (sobre 1 mes de instaladas), fue conseguida esta especie en un 42,8% de los casos, hablándose de la presencia de estomatitis subprotésica en estos últimos pacientes. También, depende mucho el tipo de material de la prótesis, la dieta e higiene bucal del portador.

Diseño de la investigación y métodos

Tipo de estudio: observacional, transversal, prolectivo, descriptivo.

Universo de estudio: 20 pacientes de la clínica multidisciplinaria Zaragoza, UNAM portadores de prótesis dentales removibles acrílicas y metálicas. Los criterios de inclusión determinan que todos los portadores de prótesis que se incluyan en el estudio deberán tener una edad de 20 años en adelante, que las prótesis que actualmente utilicen tengan un tiempo mínimo de un mes de uso, que sean removibles, elaboradas de acrílico o metal, y que sean pacientes que acepten participar en el estudio firmando el consentimiento informado. En los criterios de exclusión se considerará fuera del estudio a todos los pacientes que hayan realizado el aseo de sus prótesis dos horas anteriores a la toma de muestra, que no lleven colocadas sus prótesis en el momento de la muestra, así como aquellos que no utilicen frecuentemente sus prótesis dentales.

Material y método

Se realizó una ficha de identificación para cada paciente, de la misma manera se aplicó un cuestionario que incluyó preguntas acerca del estado de salud actual del paciente asociado

con problemas sistémicos (diabetes, hipertensión, gastritis y problemas articulares) o con procesos infecciosos (buceales y respiratorios principalmente), con el propósito de encontrar alguna relación entre los microorganismos identificados en las prótesis y el estado de salud reportado en el cuestionario, firmado por el paciente junto con el consentimiento informado para participar en el estudio.

Se prepararon siguiendo las instrucciones del fabricante, tubos del medio BHI (infusión cerebro corazón) de 10ml, de la misma manera, se prepararon por triplicado, medios selectivos de cultivo en cajas con separaciones triples mitis salivarius, rogosa, sal y manitol, y Sabouraud una de cada medio para cada muestra tomada, así como se prepararon tubos para pruebas bioquímicas: fermentación de carbohidratos con lactosa, manitol, ribosa, sorbitol, xilosa, y trehalosa cada una con 91 reactivo rojo de fenol. Prueba de reducción de nitratos, prueba de Voges Proskauer, y cajas con agar sangre.

Se tomó un tubo de BHI al azar al igual que una caja de cada medio selectivo y un tubo de cada prueba bioquímica para dejarlos en prueba de esterilidad durante 24 horas a 37°C.

Se seleccionaron al azar, 20 pacientes de la Clínica Multidisciplinaria Zaragoza, portadores de prótesis dentales removibles acrílicas o metálicas: 10 pacientes con prótesis acrílicas y 10 con prótesis metálicas, integrados al estudio a través de la ficha de identificación, cuestionario y consentimiento firmado.

Con un hisopo estéril, se tomó la muestra de la prótesis en su parte interna, colocándolo en el tubo de BHI para trasladarlo al laboratorio. Incubándolo a 37 °C durante 24 hrs.

Pasadas las 24 horas, el crecimiento de microorganismos fue homogeneizado y se tomó una muestra sembrándola en cada uno de los medios selectivos (sal y manitol, mitis salivarius, rogosa, Sabouraud) y estos se incubaron durante 24 hrs a 37° C. Despues de este tiempo se realizaron: la lectura de morfología colonial, frotis de cada uno de los medios selectivos utilizando la tinción de Gram, los cuales se observaron en el microscopio bajo el objetivo de inmersión, y se sembraron las pruebas bioquímicas pertenecientes para cada uno de los medios selectivos dejando incubar durante 24 horas a 37°C.

Posteriormente, se hizo la lectura de las pruebas bioquímicas y se anotaron los resultados en los registros.

Obtenidos los datos de lectura de morfología colonial, de frotis y de pruebas bioquímicas, se realizó la tipificación basada en el manual de Bergey's y en el libro Yeasts characteristics and identification^{12,13}.

Resultados

De las 20 muestras obtenidas de las prótesis se pudieron identificar diferentes especies de *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus* y *Candida*.

No todas las especies microbianas identificadas son flora normal de la cavidad bucal, ya que se pudieron identificar cepas de *Staphylococcus* y *Lactobacillus* propios de alimentos.

El crecimiento colonial presentado en mitis salivarius fue del 100%, en sal y manitol, rocosa, y Sabouraud se presentó 68% en cada uno. (Cuadro II)

Las especies microbianas identificadas en mitis salivarius fueron *S. mutans* y *S. salivarius* 25% para cada especie representando estas la mayoría de especies identificadas presentándose con mayor frecuencia en prótesis metálicas, también se identificaron *S. sobrinus* y *S. milleri* esta última se presentó con mayor frecuencia en prótesis acrílicas con un 10% para cada especie y *S. ferus* con un 5%. (Cuadro III)

En cuanto a las especies microbianas identificadas en sal y manitol: se identificaron *S. epidermidis* 25 %, *S. carnosus* y *S. aureus* con un 15 % cada uno presentándose estas en su mayoría en prótesis acrílicas, en cuanto a *S. lugdunensis* se presentó con mayor frecuencia en prótesis metálicas en un 10% y *S. shleiferi* subespecie *shleiferi* en un 5%. (Cuadro IV)

En el medio de agar rocosa se identificaron *L. fructivorans* 20 %, *L. confusus* 10 %, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. bavaricus*, *L. casei* sub. *pseudoplantarum*, *L. murinus* y *L. plantarum* en un 5% cada una, presentándose todas las especies de manera equitativa tanto en prótesis metálicas como acrílicas. (Cuadro V)

En cuanto a las especies microbianas identificadas en Sabouraud se presentaron *C. Krusei* 30% seguida de *C. albicans* 20% y *C. tropicallis* 10% presentándose de manera equitativa

tanto en prótesis metálicas como acrílicas. (Cuadro VI)

Los resultados con relación a las enfermedades reportadas por los pacientes arrojaron que la mayoría de los pacientes padece hipertensión 25%, seguida de gastritis y periodontitis con un 15% cada una, colitis, diabetes mellitus y quistes con un 10 % cada una.

En cuanto a los síntomas reportados por los pacientes se encuentran: problemas con articulaciones 50%, agruras 45%, dolor o ardor de garganta 40%, cefalea 30%, temblores en manos o lengua 15%, catarros 10%, algodoncillo 5%. (Cuadro VII)

Cuadro II. Crecimiento colonial presentado en los medios de cultivo empleados en el estudio.*

Medio de cultivo	Total	Porcentaje
Mitis salivarius	20	100%
Sal y manitol	17	68%
Rogosa	17	68%
Sabouraud	17	68%
*Fuente directa 2005		

Cuadro III. *Streptococcus* identificados en mitis salivarius con relación al tipo de material de la prótesis *

Especies	Material Total			Porcentaje
	Acrílico	Metal		
1 <i>S. mutans</i>	1	4		25%
2 <i>S. salivarius</i>	2	3	5	25%
3 <i>S. sobrinus</i>	1	1	2	10%
4 <i>S. milleri</i>	2	0	2	10%
5 <i>S. ferus</i>	0	1	1	5%
6 Sin tipificar	4	1	5	25%
7 Sin crecimiento	0	0	0	0%
Total	10	10	20	100%
*Fuente directa 2005.				

Cuadro IV. *Staphylococcus* identificados en sal y manitol con relación al tipo de material de la prótesis.*

Microorganismos	Material		Total Porcentaje	
	Acrílico	Metal		
1 <i>S. epidermidis</i>	4	1	5	25%
2 <i>S. carnosus</i>	2	1	3	15%
3 <i>S. lugdunensis</i>	0	2	2	10%
4 <i>S. aureus</i>	3	0	3	15%
5 <i>S. shleiferi</i> sub. <i>shleiferi</i>	0	1	1	5%
6 Sin tipificar	0	3	3	15%
7 Sin crecimiento	1	2	3	15%
Total	10	10	20	100%

*Fuente directa 2005

Cuadro V. *Lactobacillus* identificados en rocosa con relación al tipo de material de la prótesis.*

Microorganismos	Material		Total Porcentaje	
	Acrílico	Metal		
1 <i>L. fructivorans</i>	2	2	4	20%
2 <i>L. brevis</i>	1	0	1	5%
3 <i>L. confusus</i>	1	1	2	10%
4 <i>L. fermentum</i>	1	0	1	5%
5 <i>L. bavaricus</i>	0	1	1	5%
6 <i>L. murinus</i>	1	0	1	5%
7 <i>L. plantarum</i>	0	1	1	5%
8 <i>L. casei</i> sub. <i>pseudoplantarum</i>	1	0	1	5%
9 Sin tipificar	2	3	5	25%
10 Sin crecimiento	1	2	3	15%
Total	10	10	20	100%

*Fuente directa 2005

Cuadro VI. Levaduras identificadas en Sabouraud con relación al tipo de material de la prótesis.*

Microorganismos	Material		Total de especies	Porcentaje sobre el total
	Acrílico	Metal		
1 <i>C. krusei</i>	3	3	6	30%
2 <i>C. albicans</i>	2	2	4	20%
3 <i>C. tropicalis</i>	0	2	2	10%
4 Sin tipificar	3	2	5	25%
5 Sin crecimiento	2	1	3	15%
Total	10	10	20	100%

*Fuente directa 2005

Cuadro VII. Manifestaciones presentadas en los pacientes en relación con los microorganismos identificados en las prótesis dentales removibles.*

Problema	Pacientes	%	Streptococcus	Staphylococcus	Lactobacillus	Levaduras
Algodoncillo	1	5%	1	1	1	1
Ardor De Garganta	8	40	6	7	6	4
Agruras	9	45	9	4	6	6
Catarro	2	10	2	1	1	2
Articulaciones	10	50	8	8	6	4
Cefalea	6	30	5	4	5	4
Fiebre	0	0	0	0	0	0
Temblores	3	15	2	2	2	2
*Fuente directa 2005.						
*Fuente directa 2005						

Conclusiones

Theilade E, Budtz-Jorgensen, y Escobar, reportan que la mayoría de los microorganismos identificados en prótesis dentales son *Streptococcus* y *Staphylococcus*, lo cual se corroboró en el presente estudio (14), (15). Dentro de las especies de *Streptococcus* identificadas se encontraron con mayor frecuencia tal como lo reporta J Carlsson *S. salivarius* y *S. mutans* (16) el cual es el principal microorganismo relacionado con la caries dental y al mismo tiempo forma parte de los *Streptococcus* responsables de la mayoría de las endocarditis infecciosas.

Dentro de los *Staphylococcus* se identificaron: *S. aureus* el cual produce afecciones a nivel de garganta y faringe, del mismo modo se identificaron cepas de *Staphylococcus* y *Lactobacillus* relacionados con los que se presentan en los alimentos.

Los resultados obtenidos explican el valor de la prevención en el área odontológica y al mismo tiempo exponen la necesidad de enseñarles y explicarles a los pacientes portadores de prótesis dental la importancia de los hábitos de higiene bucal ya que cuando estos se realizan de manera correcta, disminuyen el peligro de adquirir enfermedades tanto bucales como sistémicas.

Al realizar un diagnóstico en pacientes donde se presenta de manera recurrente alguna enfermedad ya sea bucal o sistémica, se tienen que tomar en cuenta diferentes factores entre ellos si el paciente es portador de alguna prótesis dental, el tipo de material de esta, cuantos años tiene con ella, el estado físico de la prótesis dental, el diseño de la prótesis, y el tipo de higiene que presenta el paciente tanto en la cavidad bucal como en la prótesis dental ya que esta puede ser usada como reservorio por diferentes microorganismos.

Referencias bibliográficas

1. Steinberg Doron, Eyal Shahar. Early formation of *Streptococcus* sobria us biofilm on various dental restorative materials. *J Dent* 2002; 30: 49-51.
2. Pardi G, Cardozo EI. Relación entre la placa dental y la estomatitis subprotésica. *Acta Odontológica Venezolana* [serial online] 2003 abril [citado 16 junio 2004]; 41(1):[17 pantallas]. Disponible en: URL: http://www.actaodontologica.com/41_12003
3. Marcantoni M. Ecología de la cavidad bucal. En: Negroni M, editores. *Microbiología estomatológica*. Argentina, Panamericana. 2004, p.189-203.
4. Edgerton M, Levine MJ. Characterization of acquired denture pellicle from healthy and stomatitis patients. *J of Pros Dent* 1992; 68: 683-691.
5. Liébana UJ, González RMP, Liébana CM, Parra ALE. Composición y ecología de la microbiota oral. En: Liébana UJ, editores. *Microbiología oral*. 2 ed. España, Mc Graw Hill interamericana. 2002, p. 515-525.
6. Liébana UJ, Navajas RJM, Insilla CS, Álvarez EM. Determinantes Ecológicos Orales. En: Liébana UJ, editores. *Microbiología oral*. 2 ed. España, Mc Graw Hill interamericana. 2002, p. 531-540.
7. Collins CH. *Staphylococcus*, *micrococcus*, *peptococcus* y *sarcina*. En: Collins CH, Iyen P, editores. *Métodos microbiológicos*. 5 ed. Zaragoza, Acribia. 1988, p. 385-391.
8. Collins CH. *Streptococcus*, *aerococcus*, *leuconostoc* y *pedicoccus*. En: Collins CH, Iyen P, editores. *Métodos microbiológicos*. 5 ed. Zaragoza, Acribia. 1988, p. 393-403.
9. Collins CH. *Corynebacterium*, *microbacterium*, *brochotrix*, *propionibacterium*, *listeria*, *lactobacillus* y *bifidobacterium*. En: Collins CH, Iyen P, editores. *Métodos microbiológicos*. 5 ed. Zaragoza, Acribia. 1988, p. 416-420.
10. Collins CH. *Levaduras* En: Collins CH, Iyen P, editores. *Métodos microbiológicos*. 5 ed. Zaragoza, Acribia. 1988, p. 476-481.
11. MacFaddin FJ. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Sed. Argentina, Panamericana. 2003, p. 55-73, 178-175, 326331, 411-420, 512-527.
12. Staley TJ, Bryant PM, Pfennig N, Holt GJ. *Manual of Bergey's. U.S.A*, Williams and Wilkins.1989, p. 574-575, 591-597, 1010-1011, 1016-1017, 1049-1065, 1122-1132, 1208-1234, 1269-1283, 1355-1370, 1342-1343, 1405-1430.19
13. Barnett JA, Payne RW, Yarrow D. *Yeasts Characteristics and identification*. 2 ed. England, Cambridge University. 1990. p.49-57.
14. Theilade E, Budtz-Jorgensen E, Theilade J. Predominant cultivable microflora of plaque on removable dentures in patients with healthy oral mucosa. *Archives of Oral Biology*. 1983;28(8): 675-80.
15. Escobar SM. Microorganismos presentes en prótesis removibles bucales con base de acrílico, de los pacientes que asisten a las clínicas multidisciplinarias Zaragoza y Estado de México UNAM. México: FES Zaragoza UNAM; 2003.
16. Carlsson J, Söderholm G, Almfeldt I. Prevalence of *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus mutans* in the mouth of persons wearing full-dentures.- *Archives of Oral Biology*. 1969; (14)3: 243-249.