

CARACTERIZACIÓN DE LA MICROFLORA ORAL EN NIÑOS DE 0 A 6  
MESES DE EDAD

SANDRA PAOLA MORENO  
YASMÍN ROJAS MARTÍNEZ

TRABAJO DE GRADO  
Presentado como requisito parcial  
Para optar al título de

BACTERIÓLOGA

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE BACTERIOLOGÍA  
Bogotá, Mayo 31 del 2002

CARACTERIZACIÓN DE LA MICROFLORA ORAL EN NIÑOS DE 0 A 6  
MESES DE EDAD

SANDRA PAOLA MORENO  
YASMÍN ROJAS MARTÍNEZ

---

Dra. MARÍA CECILIA MARTÍNEZ  
Directora

---

Dra. ADRIANA RODRÍGUEZ  
Codirectora

---

Dr. HUGO DIEZ ORTEGA  
Jurado

---

Dra. SILVIA BARRIENTOS  
Jurado

CARACTERIZACIÓN DE LA MICROFLORA ORAL EN NIÑOS DE 0 A 6  
MESES DE EDAD

SANDRA PAOLA MORENO  
YASMÍN ROJAS MARTÍNEZ

---

Dra. AURA ROSA MANASCERO  
Directora de la carrera de Bacteriología

---

Dra. ANGELA UMAÑA  
Decana Académica de la Facultad

Primero que todo le doy gracias a Dios por haberme dado unos padres ejemplares que me permitieron realizarme como persona y como profesional, de igual manera dedico este trabajo a Omar quien ha sido un apoyo muy importante en mi vida, este trabajo va dirigido especialmente a ellos.

Sandra Paola Moreno Ch.

Primero que todo quiero dar gracias a Dios por haberme dado la oportunidad de tener unos padres maravillosos que me han colaborado durante toda mi carrera, por lo cual dedico este trabajo a ellos y de igual manera a Amalia y Eusebio quienes han sido incondicionales y me han apoyado para poder culminar con mi carrera.

Yasmín Rojas Martínez.

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

Artículo 23 de la resolución N°13 de julio de 1946: “ La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus tesis de grado.

## TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
INTRODUCCIÓN	9
1. Marco Teorico	11
1.1 Microbiota de la cavidad oral	11
1.2 Naturaleza de la microbiota oral	12
1.3 Ecosistemas primarios	13
1.4 Cocos grampositivos	15
1.4.1 Staphylococcus aureus	16
1.4.2 Estreptococos	16
1.4.2.1 Estreptococos del grupo mutans	17
1.4.2.2 Estreptococos del grupo mitis	18
1.4.2.3 Estreptococos del grupo salivarius	18
1.4.2.4 Estreptococos del grupo sanguis	19
1.4.3 Peptostreptococcus	20
1.4.4 Peptococcus	20
1.4.5 Genero Enterococcus	20

1.4.6	Genero micrococcus	21
1.5	Coco Gramnegativo	22
1.5.1	Genero veillonella	22
1.5.2	Neisseria	22
1.6	Bacilo grampositivo	23
1.6.1	Genero Lactobacillus	23
1.6.2	Genero Actinomyces	23
1.6.3	Genero bifidobacterium	24
1.6.4	Genero difteroides	24
1.6.5	Leptotrichia bucalis	25
1.7	Bacilo gramnegativo	25
1.7.1	Fusubacterium	25
1.7.2	Genero actinobacillus	26
1.7.3	Genero Eikenella corrodens	27
1.7.4	Genero porphyromonas	27
1.7.5	Genero prevotella	28
1.7.6	Genero haemophilus	29
2.	Justificación	30
3.	Objetivo General	31

3.1	Objetivos Específicos	31
4.	Materiales y Métodos	32
4.1	Tipo de Estudio	32
4.2	Población y muestra	32
4.3	Análisis de la información	33
4.4	Recolección de la muestra	34
4.5	Cultivo para aerobios	34
4.5.1	Identificación	35
4.6	Cultivo de Anaerobios	35
4.6.1	Identificación	36
4.6.2	Lectura	36
5.	Resultados	37
5.1	Gráfico #1	37
5.1.1	Tabla # 1	38
5.1.2	Gráfico # 2	39
5.2	Tabla # 2	40
5.2.1	Gráfico # 3	41
5.3	Tabla # 3	41
5.4	Tabla # 4	42
5.3.1	Gráfico # 4	43
5.4.1	Gráfico # 5	43

5.5	Tabla # 5	44
5.6	Tabla # 6	45
5.7	Gráfico # 6	46
5.7.1	Tabla # 7	47
6.	Discusión	48
7.	Conclusiones	53
8.	Recomendaciones	54
9.	Bibliografía	55
	ANEXOS	

## INTRODUCCIÓN

La cavidad oral sana constituye un sistema ecológico equilibrado en el que se presenta una microbiota extraordinariamente compleja, de la que se han llegado a aislar hasta 200 especies diferentes de las cuales, un alto número son transeúntes y tan solo unas 20 especies se consideran autóctonas o residentes<sup>1,2,3</sup>. El nacimiento es el primero de los acontecimientos ambientales que afectan a la sucesión alogénica de la cavidad oral. En el útero, el feto se encuentra libre de microorganismos. Por el paso a través del canal del parto (contacto con la microbiota vaginal) y por las relaciones con el mundo exterior (p.ej. aire o alimentación) se inicia la colonización oral<sup>4,5</sup>. Por lo tanto en la cavidad oral del recién nacido se pueden encontrar microorganismos del canal vaginal (*Lactobacillus*, *Corinebacterias*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacilos gram negativos entéricos*, Levaduras y *Streptococcus*), que desaparecen 2 a 5 días después, siendo remplazados en algunos casos la microbiota materna de familiares o personal sanitario. La microbiota anaerobia estricta, como *veillonella spp*, *peptostreptococcus spp*, *fusobacterium spp*,

---

1. BEIGHTON. B, Hardie JM, Whilei RA. Scheme for the identification of viridans streptococci. J Med Microbiol 1991; 35: 367-372

2. BERNARD, Henry, Diagnostico y Tratamiento Clínico por el laboratorio, novena edición, Masso, S.A. Barcelona, España, 1998, p. 1055.

3. BREA, Manuel López, Procedimientos en Microbiología Clínica, recomendaciones de la sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 1999.

4. CERRIL, Pearce, G.H. Bowden, Mishell Evans, Identification of pioneer viridans streptococci in the oral cavity human neonates. J Med Microbiol, 1995; 42: 67-72.

5. ESCOBAR, Miriam, Microbiología de la Cavidad Oral, Centro Editorial Javeriano CEJA, 1999, p. 57 y 58.

y otras especies anaerobias facultativas como *Actinomices spp.*, *Actinobacillus actinomycetencomitans* y *Eikenella orrodens*, aparece en baja cantidad y solo en estrecha relación simbiótica con la aerobia.<sup>6</sup>

Las infecciones de la cavidad oral a veces pueden actuar como foco de enfermedad en otras áreas del organismo humano, por lo tanto los odontólogos deben conocer las posibles consecuencias sistémicas de estos focos debido a que el reconocimiento y tratamiento precoz evita las complicaciones secundarias, especialmente en pacientes de alto riesgo como los inmunosuprimidos.<sup>7, 8</sup>

Para realizar la investigación microbiológica de los procesos infecciosos de la cavidad bucal, es indispensable conocer los diferentes ecosistemas orales primarios y la microbiota residente y autóctona de cada uno de ellos para poder establecer la importancia patogénica de los microorganismos aislados.<sup>9, 10</sup>

En el presente estudio se identificó la flora oral bacteriana en niños de 0 a 6 meses de edad, que no presentaban ninguna complicación perinatal, y se encontraban en etapa predental, es decir que no presenten ningún diente erupcionado, para así conocer el tipo de colonización de la cavidad oral de niños con estas características.

---

6. KONEMAN, Elmer. W, Diagnostico Microbiologico, Editorial Médica Panamerica, 5 edición , 1999

7. LIÉBANA, José Ureña, Microbiología Oral, Editorial Interamericana, Mdrid, 1995, p. 58,278.

8. RESTREPO, Jorge M, Enfermedades Infecciosas, 5 Edición, CIB, Medellín Colombia, 1996,. P. 108

9. SMIT, DJ. Anderson JM, King WF, Houte J, Taubman MA, Oral streptococcal colonization of infants, Oral Microbiol Immunol, 1993; 8: 1-4.

10. WALTER, J. Loesche,DMP, PhD, Association of the Oral flora with important Medical Diseases, Current opinion in Periodontology, 1997, 4: 21-2.

## RESUMEN

Con el propósito de aislar e identificar los microorganismos que componen la *flora oral* de *niños predentales* sanos entre 0 y 180 días de edad, se realizó un estudio observacional descriptivo en el que se analizaron 25 *hisopados de cavidad oral*. Los géneros de aparición más frecuente en estas muestras fueron *Streptococos viridans* (72%), *Enterococcus* (68%), *S.intermedius* (52%) y *Lactobacillus* (44%). No se observaron diferencias en la composición de la *flora oral* bacteriana de la muestra estudiada a pesar de que esta abarca un rango de edad en la que se especula pueden presentarse eventos que la modifiquen. Llama la atención la aparición en estas muestras de la especie anaerobia como *Veillonella*, considerada generalmente como colonizadora tardía. También se destaca la detección de *Streptococos mutans* en 14 de las muestras, hecho que permite suponer que este microorganismo puede aparecer en la cavidad oral independientemente de la aparición del primer diente.

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 MICROBIOTA DE LA CAVIDAD ORAL

La cavidad oral comprende la lengua, los dientes, la mucosa bucal y el surco gingival. Su microbiota se caracteriza por una gran variabilidad, que depende de diversos factores, tales como la presencia o ausencia de dientes o de caries y de la zona de la que se trate, siendo muy diferente incluso en zonas relativamente próximas y similares.<sup>11</sup>

El ser humano no presenta dientes en el momento del nacimiento y tiene una flora característica de este estado. Desde el nacimiento, la cavidad bucal está expuesta a muchos y distintos microorganismos que están presentes en el ambiente. Los microorganismos, que llegan a ser residentes en la cavidad bucal, serán aquellos que se ven favorecidos por las condiciones fisiológicas y nutricionales y no son inhibidos por factores mecánicos o por otros factores antagonistas de ese territorio corporal.<sup>12</sup>

La cavidad bucal debe considerarse como una incubadora bacteriológica ideal. Tiene una temperatura entre 35°C y 37°C con abundante humedad y un excelente aprovisionamiento de diferentes tipos de alimentos y variadas tensiones de oxígeno.<sup>13</sup>

---

11.LIEVANO, José.U. Microbiología Oral. España: Mc-Graww-Hill, 1997. p. 92

12.BURNETT, George. W. Microbiología Oral y enfermedades infecciosas, Ed. Mecica Panamericana S.A, 1982. P. 170-171

13.NOLTE, William. A. Microbiología Odontológica, México: Ed. Interamericana, 1984. P. 193

Por esto las bacterias aerobias, facultativas y las anaerobias encuentran condiciones favorables para su crecimiento.

In útero, el feto normalmente está libre de gérmenes. Durante el nacimiento es posible que el niño sea inoculado con la flora normal del tracto genital de la madre. Por lo tanto, la cavidad oral del neonato puede contener microorganismos del canal vaginal como (lactobacilos, corinebacterias, estafilococos, micrococos y bacilos gram negativos entéricos), que desaparecerán entre los 2 a 5 días posteriores al nacimiento, siendo reemplazados por microorganismos orales de la madre, familiares o personal sanitario. Esos tipos microbianos, en conjunto, se denominan flora residente, flora normal, o bien, flora natural y constituyen el ecosistema de la cavidad bucal.

## 1.2 NATURALEZA DE LA MICROBIOTA ORAL

La microbiota oral es extraordinariamente compleja. Se han llegado a aislar hasta 200 especies distintas de una misma cavidad oral en el transcurso del tiempo; la mayor parte de estas especies tendría la característica de ser transitorias, de tal forma que, como flora residente sólo quedarían unas 20 especies aproximadamente.

A continuación se indican algunos de los microorganismos que constituyen esta microbiota, especialmente la que tiene el carácter de ser residente o autóctona.<sup>14</sup>

---

14. LIEVANO. Op. Cit,p . 93-94

## 1.2 ECOSISTEMAS PRIMARIOS

Es prácticamente imposible mencionar todos y cada uno de los microorganismos que colonizan o pueden colonizar los ecosistemas primarios orales. A continuación, se indica la distribución microbiana aproximada en dichos nichos ecológicos.

**Mucosa:** La microbiota de la mucosa oral esta constituida, salvo encías y labios, casi exclusivamente por cocos grampositivos anaerobios facultativos, especialmente por *Streptococcus viridans*.

**Labios:** Al existir una transición de piel a mucosa no es extraño que estén colonizados por una microbiota cutánea, como el *Staphylococcus epidermides* y *Micrococcus spp.* Además se detectan también abundantes *Streptococcus viridans*, procedentes de la saliva, las mejillas el paladar duro y el dorso de la lengua debido al acto de humedecimiento.

**Paladar blando:** Aparecerán bacterias propias de las vías respiratorias como *Haemophilus, spp.* y *S. pyogenes* y *Streptococcus viridans*.

**Dorso de la lengua:** Ofrece amplias posibilidades para la colonización bacteriana. Aproximadamente un 45% son cocos grampositivos anaerobios facultativos, destacando sobre los demás *S. salivarius*. Le siguen en proporción los cocos gram negativos anaerobios estrictos, aproximadamente el 16%, con diversas especies de *Veillonella*, y bacilos grampositivos anaerobios facultativos, aproximadamente 12%, fundamentalmente, *Actinomyces spp.*

**Saliva:** Al carecer de microbiota propia, todos los microorganismos aislados tendrán un carácter transitorio y dependerá de la composición de los otros ecosistemas primarios. Los microorganismos que se hallan en la saliva proceden del desprendimiento que se produce en otras áreas bucales, especialmente del dorso de la lengua. Existe una amplia variabilidad en las características de la saliva, ya que ésta va estar influida por numerosos factores como humedad, pH, temperatura y el potencial de oxido-reducción. En general, predominan los cocos grampositivos anaerobios facultativos, aproximadamente un 44%, los cocos gram negativos anaerobios estrictos como *veillonella spp*, aproximadamente 15% y los bacilos anaerobios facultativos grampositivos, como *Actinomyces spp*; con aproximadamente un 15%.

**pH:** El pH de la cavidad oral oscila, en condiciones normales, entre 6,7 y 7,5 que es el pH óptimo para el desarrollo de la mayor parte de los microorganismos relacionados con el hombre. Sin embargo este pH está sometido a numerosas variaciones, como bebidas o alimentos dulces o el metabolismo bacteriano de los carbohidratos pueden provocar descensos importantes, mientras que el metabolismo de las proteínas o condiciones de ayunas lo elevan. Es la saliva la que ejerce la función amortiguadora más importante. Los reguladores salivales contienen bicarbonatos, fosfatos y proteínas<sup>15</sup>.

---

15. LIEVANO. Op. Cit., p. 405

#### 1.4 COCOS GRAMPOSITIVOS:

##### *Staphylococcus*

Las bacterias grampositivas, especialmente los cocos, son los microorganismos aislados con mayor frecuencia a partir de muestras clínicas humanas en el laboratorio de microbiología. Estas bacterias están ampliamente distribuidas en la naturaleza y pueden ser recuperadas a partir del ambiente o como habitantes comensales de la piel, las mucosas y otros sitios del cuerpo de los seres humanos y los animales. <sup>16</sup>

Casi todas las bocas alojan cocos grampositivos facultativos, catalasa positivos que fermentan la glucosa y reducen el nitrato, siendo identificados como micrococcos-estafilococos. Los datos disponibles indican que suman aproximadamente 2% de la cuenta viable del surco gingival y cerca del 6.5% del dorso de la lengua aunque son bastante raros en la placa. <sup>17</sup>

##### *Morfología de las colonias*

Las especies de *Micrococcus* y de *Staphylococcus* producen colonias características en agar sangre de carnero. Algunas cepas producen pigmentos y son amarillas, rosadas, anaranjadas o pardas, en tanto que otras son de color blanco sucio o blanco hueso. Las colonias de la mayoría de las especies de *Staphylococcus* se desarrollan con mayor rapidez y tienen entre 1 y 2 mm de diámetro después de 12 horas de incubación. Las colonias habitualmente son lisas, mantecosas y ligeramente convexas con bordes enteros. <sup>18</sup>

16.KONEMAN, Elmer. W. Diagnostico Microbiológico, Editorial Médica panamericana, quinta edición, 1999

17.Nolte, Op. cit., p. 188.

18.KONEMAN, Op. Cit., p.

#### 1.4.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* es sin duda el patógeno humano más importante entre los estafilococos. Aunque este microorganismo suele formar parte de la microflora humana normal, puede producir infecciones oportunistas importantes.

La mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* producen toxinas alfa, beta y gama y una serie de otras proteínas extracelulares, que incluyen leucocidina, ureasa, lipasa, gelatinasa y fosfatasa.<sup>19</sup>

#### 1.4.2 **Estreptococos**

Los estreptococos facultativos forman el grupo más numeroso en la cavidad oral, promediando en la mayoría casi la mitad de las cuentas viables de saliva y dorso de la lengua, y aproximadamente un cuarto de las cuentas viables de la placa y el surco gingival.

Las variedades pyógenas (hemolíticas) son generalmente escasas en la cavidad oral, donde en ocasiones originan infección local o sistémica. Los estreptococos pyógenos aislados ocasionalmente de la cavidad oral probablemente derivan de la oronasofaringe y no deberían ser considerados como parte de la flora residente.

Los estreptococos orales más abundantes son los del grupo viridans. Estos han sido divididos en cuatro grupos: Estreptococo salivarius, Estreptococo mutans, Estreptococo mitis y estreptococo sanguis<sup>20</sup> (**Anexo # 11**).

---

19. Ibit.,p.

20. BURNETT, George. W. Microbiología Oral y enfermedades infecciosas de la boca, Editorial Limusa, S.A. 1988. p. 283-285.

Muchas especies de estreptococos viridans que habitan la cavidad oral han surgido como importantes agentes patógenos, asociados predominantemente con el comienzo y la patogenia de la caries dental. *S. mutans*, *S. sobrinus* y otros miembros del “grupo mutans” de estreptococos orales son capaces de producir enzimas denominadas **glucosiltransferasas**, que hidrolizan la sacarosa de la dieta (un disacárido de glucosa y fructosa) y une los residuos de glucosa entre sí por medio de uniones alfa-1,6 y alfa-1,4 glucosídicas para formar glucanos insolubles. Estos glucanos confieren a los microorganismos la propiedad de adherirse a las superficies lisas de los dientes y de formar la matriz extracelular de la placa dentobacteriana. La adherencia específica e inespecífica de *S. mutans* y de otros microorganismos a los glucanos insolubles, y la subsecuente formación de ácidos conduce a la desmineralización del esmalte dental y a la iniciación de las lesiones cariosas. Otros estreptococos orales, incluidos *S. sanguis*, *S. salivarius* y posiblemente *S. gordonii*, también son capaces de sintetizar estos polisacáridos. <sup>21</sup>

#### 1.4.2.1 **Estreptococos del grupo mutans**

Su hábitat principal son las superficies dentales de la cavidad oral humana, sobre las que forman la placa dentobacteriana o biofilm. Su presencia en el biofilm se ve favorecida por los niveles altos de sacarosa de la dieta.

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

---

21. KONEMAN, Elmer. W. Diagnostico Microbiológico, Editorial Médica panamericana, quinta edición, 1999

Los estudios epidemiológicos han demostrado una relación directa entre los recuentos de mutans y la presencia de caries dental. En la actualidad esta relación se usa para predecir caries dental a partir de mutans recuperados de la saliva. Los recuentos bacterianos altos, como  $1 \times 10^6$  UFC por mililitro de saliva, se consideran indicadores de un alto riesgo para el desarrollo de caries dental.

#### 1.4.2.2 **Streptococos del grupo mitis**

Este grupo está conformado por *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis* tipo 2, *Streptococcus mitior* y *Streptococcus oralis*.

Se han descrito dos biotipos. El biotipo 1 coloniza la mucosa de la cavidad bucal y forma parte inicial de la placa cariogénica de superficies libres. Sólo algunas cepas tienen actividad de IgA<sub>1</sub> proteasa. El biotipo 2 se encuentra en el dorso de la lengua. La producción de neuraminidasa es variable en ambos, pero su capacidad peroxidogénica es constante. Carecen de ácidos lipoteicoicos, y su capacidad de adhesión a la película adquirida y superficies epiteliales indican que en el proceso de colonización deben participar otras adhesinas.

#### 1.4.2.3 **Streptococos del grupo salivarius**

Actualmente ha sido reclasificado como “grupo salivarius”, conformado por dos especies: *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus vestibularis*. Ambas especies colonizan superficies epiteliales.

Estos microorganismos aparecen como células esféricas u ovoides con cadenas de tamaño variable y pueden ser cultivadas en distintos medios, en presencia de oxígeno.

*Streptococcus salivarius* es uno de los primeros microorganismos que infectan la cavidad bucal del niño después del nacimiento 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. *Streptococcus salivarius* no ha sido relacionado con caries dental, razón por la cual se le considera un verdadero comensal.

#### 1.4.2.4 **Streptococos del grupo sanguis**

Este grupo está conformado por *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii* y *Streptococcus parasanguis*.

El primer hábitat de *Streptococcus sanguis* parece ser la placa dental, donde representa cerca de la mitad del total del número de estreptococos. Coloniza la cavidad bucal de los niños después de la erupción dentaria y los estudios han demostrado que es el primer microorganismo que se instala en superficies dentarias limpias. Estos microorganismos producen glucanos solubles a partir de la sacarosa, generan peróxido de hidrógeno y tienen actividad de IgA<sub>1</sub> proteasa y así pueden inhibir el desarrollo y la adherencia de otros microorganismos.

El *Streptococcus gordonii* se puede encontrar en la placa supragingival madura. Produce polisacáridos extracelulares solubles (glucanos) y es incapaz de formar polisacáridos intracelulares. Genera peróxido de hidrógeno<sup>22</sup>.

---

22. NEGRONI, Marta, Microbiología Estomatológica, Fundamentos y guía práctica, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 1999, p. 203-208.

#### 1.4.3 *Peptostreptococcus*

Son un grupo de cocos grampositivos anaerobios y no móviles que se presentan en pares y en cadenas cortas o largas. Los *peptostreptococcus* en general no son invasivos, se les considera parásitos endógenos que habitan en la piel, vías respiratorias y digestivas, vagina y cavidad bucal.

Se aíslan a partir de la placa subgingival de bolsas periodontales, gingivitis, periodontitis e infecciones de canales radiculares. Todas las especies tienen nula o escasa actividad sacarolítica.

#### 1.4.4 *Peptococcus*

Son cocos grampositivos asociados en parejas, tetradas o masas irregulares. Se aísla como microbiota normal en numerosos puntos del organismo, como la vagina, el ombligo o el intestino. Muy rara vez se recuperan de la cavidad oral.

#### 1.4.5 *Genero Enterococcus*

El género *Enterococcus* incluye los enterococos clasificados previamente dentro de los estreptococos grupo D. Estos microorganismos son habitantes normales de los tractos gastrointestinal y biliar, y, en menor cantidad, de la vagina y la uretra masculina. Este género fue separado de los *Streptococos* en función de distintas características, por su capacidad de desarrollarse a 10°C y 45°C, desarrollo en presencia de 6,5% de NaCl, desarrollo a pH 9,6, capacidad de hidrolizar la esculina en presencia de 40% de bilis, y producción de pirrolidonil arilamidasa. .

Son productores de una gran variedad de procesos infecciosos: meningitis, otitis, neumonías, endocarditis subagudas, abscesos intraabdominales e infecciones urinarias. En una buena parte de los casos se tratan de procesos nosocomiales u hospitalarios.<sup>23</sup>

Su importancia ecológica oral es dudosa, aislándose a veces como microbiota normal en la mucosa, el dorso de la lengua y las placas. Se han descrito aislamientos en infecciones radicales o abscesos odontogénicos.

#### 1.4.6 *Genero micrococcus*

Se hallan aisladas en racimos o tétradas. Son cápsulados, no forman esporas y todas las especies son inmóviles, salvo *M. agilis*. Las colonias son convexas, circulares, enteras, lisas y dependiendo de las especies pueden ser amarillas, crema, naranjas, rosas o rojas.

El género *Micrococcus* se caracteriza por ser aerobio estricto, tienen solamente metabolismo oxidativo y no producen ácidos de la glucosa por procesos fermentativos. Estas propiedades, junto a su actividad oxidasa, producción de catalasa y la ausencia de coagulasa, los diferencian de otros cocos grampositivos.

Los *Micrococcus* no suelen ser patógenos para el hombre. A veces, se han asociado con infecciones en pacientes inmunocomprometidos. Se han aislado algunas especies de la cavidad oral, especialmente de placas supragingivales, desconociéndose su importancia patógena.

---

23 .LIEVANA, José.U. Microbiología Oral. España: Mc-Graww-Hill, 1997. p. 251-252, 254,255

## 1.5 COCOS GRAMNEGATIVOS

### 1.5.1 Género *Veillonella*

El género *Veillonella* está formado por cocos anaerobios, pequeños, no móviles, gramnegativos y negativos a la reacción de oxidasa. Estas bacterias se presentan en las cavidades naturales del hombre, se encuentra en grandes cantidades en el cavidad bucal humana, vías respiratorias y vías digestivas.

*Veillonella* se caracteriza por su incapacidad de fermentar los hidratos de carbono y los polioles y por su marcada actividad metabólica sobre los ácidos láctico, succínico y otros ácidos orgánicos.

También pudieran participar en la formación de la enfermedad dental cuyo punto de partida es la placa, como la caries y la periodontitis, ya que contribuyen en forma impórtate en la formación de la placa una vez que el depósito se ha iniciado en el diente por la adherencia de otras bacterias.<sup>24</sup>

### 1.5.2 *Neiseria*

Los microorganismos denominados *Neiseria* han sido hallados en varios sitios de la cavidad oral, incluyendo los labios, la lengua, los carrillos, la placa bacteriana y la saliva. No obstante las proporciones medias fueron menores al 1% de la flora cultivable estudiada y no parecen tener una afinidad especial por cualquiera de estas superficies orales.<sup>25</sup>

---

24. BURNETT, George. W. Microbiología Oral y enfermedades infecciosas, Ed. Mecica Panamericana S.A, 1982. P. 180-181  
25. Ibit.,p. 180-181

## 1.6 BACILOS GRAMPOSITIVOS

### 1.6.1 *Genero Lactobacillus*

Desde el punto de vista morfológico, son bacilos grampositivos no ramificados, con gran pleomorfismo, pudiendo presentarse formas alargadas, bacilos cortos e incluso cocoides. Aparecen aislados, asociados en parejas cadenas o en empalizadas. Desde el punto de vista metabólico presentan escasa o nula actividad proteolítica. Con respecto a su hábitat, las especies del género *Lactobacillus* se encuentran de forma constante en la boca, la vagina y el tracto digestivo del hombre.

En la cavidad oral humana los Lactobacilos se aíslan principalmente de la saliva, el dorso de la lengua y las placas coronales, variando su concentración según el estado de salud oral. Su falta de poder adhesivo les resta interés como iniciadores del proceso carioso de superficies lisa, de forma de que su papel sería más de invasor secundario que contribuye al avance de las lesiones ya en curso.<sup>26</sup>

### 1.6.2 *Genero Actinomyces*

Son bacilos grampositivos, no esporulados e inmóviles. Pueden presentarse con diversas morfologías, observándose formas rectas, curvas, filamentosas, cocobacilares o con ramificaciones. Aparecen como elementos aislados, en parejas, cadenas cortas o empalizadas, son anaerobios facultativos. El hábitat principal de estos microorganismos en el hombre es la cavidad oral, las criptas amigdalares y el tracto genital femenino.<sup>27</sup>

---

26. BURNETT, Op. Cit., p. 181,183 -184.

27. LIEVANA, José.U. Microbiología Oral. España: Mc-Graww-Hill, 1997,p 256-257.

El cuadro clínico más importante que producen las especies del género *Actinomyces* es la actinomicosis, proceso endógeno cuya localización más frecuente es la cervicofacial (mejilla, cuello, senos paranasales, lengua, regiones parotideas, submandibular y retromandibular, y apéndice mastoides).

### 1.6.3 *Genero Bifidobacterium*

Constituido por bacilos grampositivos inmóviles, pleomórficos, algunos de ellos con engrosamientos o abultamientos terminales, y bifurcados. Pueden presentarse aislados, en cadenas cortas o en empalizadas. Son fermentativos y anaerobios.

La mayor parte de las especies tienen su hábitat primitivo en la vagina y en el intestino humano.

En la cavidad oral, la única especie de interés es *B. dentium* aislada de placa dental, lesiones cariosas y abscesos odontogénicos.<sup>28</sup>

### 1.6.4 *Género Difterioides*

Por lo menos tan numerosos en la cavidad oral como *Veillonella*, se cuentan los bacilos grampositivos. Se ha informado que las cepas facultativas promedian el 13% de la cuenta viable del dorso de la lengua, el 15% del surco gingival y el 24% de la placa bacteriana, son obligadamente anaerobias, debido a su pleomorfismo, las formas ocasionales en clava, la disposición angular en grupos que se semejan a ideogramas chinos.<sup>29</sup>

Esta diferenciación morfológica, no obstante, no es confiable, ya que muchas de estas bacterias crecen como filamentos ramificados bajo condiciones adecuadas.

---

28. LIÉBANA, Op. Cit., p. 251

29. BURNETT, Op. Cit., p. 183

### 1.6.5 *Leptotrichia buccalis*

La bacteria *L. buccalis* es uno de los microorganismos más grandes encontrados en la cavidad bucal. Requiere un ambiente de anaerobiosis para el aislamiento inicial, pero crece en subcultivos en ambiente de microaerofilia o tensión de oxígeno reducida. El microorganismo es un filamento en forma de bastoncito no ramificado, no móvil, no esporulante, recto o ligeramente curvo. En general es plano en un extremo y redondeado en el otro. Estos microorganismos se encuentran en el material de la placa dentaria y también en el surco gingival.<sup>30</sup>

## 1.7 BACILOS GRAMNEGATIVOS

### 1.7.1 *Fusobacterium*

Son bacilos obligadamente anaerobios, gramnegativos, que no forman esporas. Las Fusobacterias son miembros normales de la microflora normal y en esa localización en general exhibe una patogenicidad baja.

Sin embargo en algunas condiciones pueden participar en infecciones mixtas con espiroquetas y Estreptococos de la boca, como la gingivitis necrosante ulcerosa aguda o en infecciones mixtas similares de otras superficies mucosas sobre todo de los genitales.<sup>31</sup>

---

30. BURNETT, Op. Cit., p. 187

31. LIÉBANA, Op. Cit., p. 249

### 1.7.2 Género *Actinobacillus*

El que tiene mayor interés en la cavidad oral es el *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, este es un bacilo o cocobacilo gramnegativo inmóvil. El nicho ecológico primario de esta bacteria no se conoce, Sin embargo, en la cavidad oral puede encontrarse en la placa bacteriana supra y subgingival e incluso en la mucosa bucal. En la colonización oral se han implicado a las fimbrias las vesículas superficiales, y las interacciones antagónicas que se establecen con otras bacterias (probablemente debido a la producción de bacteriocinas por parte de estos microorganismos o por su susceptibilidad a las bacteriocinas elaboradas por otros).

El hábitat principal de estos microorganismos en el hombre es la cavidad oral las criptas amigdalares y el tracto genital femenino. El cuadro clínico más importante que producen las especies del género *Actinomyces* es la *actinomycosis*, proceso endógeno cuya localización más frecuente es la cervicofacial (mejilla, cuello, senos, lengua, regiones parotideas, submandibular y retromandibular y apéndice mastoides). Con frecuencia, existe el antecedente de extracciones dentarias, microtraumatismos bucales o infecciones por otras bacterias, que disminuyen el potencial de oxido-reducción y favorecen el desarrollo de *Actinomyces* 32

---

32.BURNETT, Op. Cit., p. 261

### 1.7.3 Género *Eikenella corrodens*

Es un bacilo pequeño gramnegativo, inmóvil, oxidasa positivo, que crece en atmósfera con 7.5% de dióxido de carbono. En sus requerimientos de oxígeno es facultativo y presenta una marcada necesidad de hemina. Esta especie es relativamente inactiva en sus reacciones bioquímicas con los hidratos de carbono.

En Agar sangre las colonias forman pequeñísimas depresiones en la superficie del Agar en 36 o 48 horas, característica a la cual se le debe su nombre. Las colonias son redondas, lisas, blanco grisáceas y crecen hasta 2 mm en cinco días de incubación a 37°C. Se han aislado de las porciones superiores de la vías respiratorias, las heridas por mordeduras del hombre, alvéolos posextracción, y del esputo. <sup>33</sup>

### 1.7.4 Género *Porphyromonas*

Son bacilos o cocobacilos gramnegativos inmóviles. Son sacarolíticos, y utilizan sustratos nitrogenados como fuente de energía. Las colonias en agar sangre son lisas, brillantes, convexas, circulares y con un pigmento marrón oscuro o negro tras varios días de incubación.

*P. gingivalis* es la especie más importante del género en la cavidad oral. Se localiza en el surco gingival especialmente cuando no existe una buena salud periodontal, en casos raros se aíslan de la lengua, amígdalas, o incluso la saliva.

---

33.LIÉBANA, Op. Cit., p. 263

Se relaciona con gingivitis, infecciones endodontales, abscesos periapicales y periodontales, y especialmente con la destrucción y progresión de las periodontitis. Su participación en infecciones extraorales es excepcional.<sup>34</sup>

#### 1.7.5 *Género Prevotella*

Son bacilos gramnegativos pleomorficos, inmóviles, sensibles a bilis al 20% y moderadamente fermentativos que carecen de las enzimas glucosa 6-fostato deshidrogenasa y 6-fosfo-gluconato deshidrogenasa. Las colonias en agar sangre son circulares, convexas, pequeñas, lisas, translúcidas u opacas, grises o con pigmento marrón o negro.

Tienen su hábitat primario en la cavidad oral, en el surco gingival, sin embargo, su papel patógeno a este nivel no ha sido claramente demostrado, aunque en principio parecen asociadas con periodontitis, gingivitis, infecciones endodontales, abscesos periodontales y periapicales.

También se ha comprobado su capacidad para degradar inmunoglobulinas, la estimulación de su crecimiento por hormonas esteroides como estradiol y progesterona, su acción tóxica de fibroblasto, y su actividad fibrinolítica.<sup>35</sup>

---

34.Ibit., p. 247

35.Ibit., p. 248

### 1.7.6 Género *Haemophilus*

Son bacilos gramnegativos, inmóviles, algunas de cuyas especies requieren factor X (hemina), factor V (NAD), CO<sub>2</sub>, tiamina y ácido pantoténico.

Tienen actividad sacarolítica. Por sus necesidades nutritivas puede emplearse Agar chocolate que permite la liberación de factores X y V y la destrucción de las sustancias inhibidoras de este último.

Las colonias son blancas o amarillentas, convexas circulares, lisas e incluso mucosas. La especie tipo *H. influenzae*, es aislada muy rara vez a partir de la saliva, y habitualmente de la nasofaringe. Origina numerosos procesos como, meningitis, otitis, neumonía, endocarditis, sepsis e infecciones neonatales, tras la colonización de la vagina materna.<sup>36</sup>

---

36. Ibit., p. 263

## 2. JUSTIFICACIÓN

No se dispone en la literatura de un conocimiento suficiente sobre los géneros bacterianos que componen la flora microbiana de la cavidad oral de niños que se encuentran en etapa pre dental. Se desconocen también los diferentes factores que pueden intervenir en la adquisición inicial de estas bacterias, aunque se sugiere en la literatura que los hábitos alimenticios, las costumbres de higiene, el estado de salud general y el tipo de contacto con familiares y allegados pueden ser determinantes importantes.

Las condiciones ambientales de la cavidad oral cambian dramáticamente con la edad, por esto se ha relacionado la adquisición de algunos géneros bacterianos nativos de la cavidad oral a edades específicas, siendo importante la identificación de estas edades de contagio por la posibilidad de llevar a cabo algún tipo de intervención preventiva en el caso de bacterias que bajo situaciones particulares se comportan como patógenos orales o sistémicos.

### **3. OBJETIVO GENERAL**

Aislar, identificar y preservar los géneros bacterianos que hacen parte de la microflora oral de niños en etapa pre dental de 0 a 6 meses de edad.

#### **3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ? Aislar e identificar los géneros bacterianos orales de neonatos en etapa pre dental, sistémicamente sanos de 0 a 180 días de edad.
- ? Identificar los grupos de *Streptococcus viridans*: *mutans*, *mitis*, *salivarius* en 14 muestras.
- ? Preservar por congelación los microorganismos aislados con el fin de utilizarlos en futuros estudios.

## 4. MATERIALES Y METODOS

### 4.1 TIPO DE ESTUDIO

El estudio es de tipo observacional descriptivo, ya que busca determinar cuales microorganismos están presentes en la cavidad oral de niños de 0 a 6 meses de edad en etapa pre dental.

### 4.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población esta constituida por niños sistémicamente sanos, en etapa pre dental de 0 a 6 meses de edad.

La muestra estuvo constituida por 25 niños que fueron distribuidos en cuatro grupos según la edad de la siguiente manera:

Grupo 1: 0 a 15 días (7 niños)

Grupo 2: 16 a 50 días (6 niños)

Grupo 3: 51 a 110 días (6 niños)

Grupo 4: 111 a 180 días (6 niños)

Los sujetos integrantes de esta muestra cumplieron los siguientes criterios de inclusión:

- ? Niños sanos que se encuentren en etapa pre dental entre 0 y 180 días de edad.

Los criterios de exclusión tenidos en cuenta fueron:

- ? Complicaciones perinatales con fiebre.
- ? Ruptura prolongada de membranas fetales

- ? Tratamiento antibiótico madre o hijo primeros 30 días de vida.
- ? Complicaciones metabólicas o infecciosas durante los primeros 30 días.
- ? Malformaciones oro faciales.
- ? Niños con dientes erupcionados aunque estuviesen dentro del rango de edad.

#### 4.3 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Se contó con el consentimiento de los padres, a los cuales se les realizó una encuesta (**Anexo # 9**), con el fin de reunir información sobre los diferentes datos de los individuos que participaron en el estudio y se aplicó en forma individual para cada niño, los parámetros incluidos fueron los siguientes:

- ✍ Edad del bebé.
- ✍ Tiempo de gestación.
- ✍ Enfermedades locales o sistémicas.
- ✍ Consumo de Antibióticos.
- ✍ Personas con los que tiene más contacto.
- ✍ Hábitos: lactancia materna, uso de tetero, chupos, succión digital, higiene.

Para la presentación de los resultados obtenidos fueron reunidos en tablas que incluyen las variables en estudio y los resultados de las pruebas realizadas y se utilizó

estadística descriptiva que incluyó cálculos de porcentaje, lo que permitió analizar la aparición de los diferentes géneros bacterianos.

#### **4.4 RECOLECCION DE LA MUESTRA**

Se obtuvieron 25 muestras de niños de 0 a 6 meses de edad en etapa pre dental. Estas muestras se recolectaron en el Hospital la Granja y el Hospital Universitario San Ignacio, fueron tomadas por medio de isopado oral de las superficies de la mucosa, las mejillas, la lengua, paladar duro, surco yugal y rebordes alveolares edéntulos, en forma uniforme, y se transportaron en caldo Trypticase de soya (SIGMA) previamente prerreducido; estas muestras fueron llevadas al Centro de Investigación Odontológica donde fueron incubadas durante 24 horas para obtener una mayor cantidad de microorganismos haciendo más fácil su recuperación.

#### **4.5 CULTIVO PARA AEROBIOS**

Una alícuota de la muestra fue sembrada en Agar Sangre (**Anexo # 1**) y Chocolate para la recuperación de microorganismos que requerían CO<sub>2</sub> al 5%, estos fueron incubados durante 48 horas, posteriormente se observó el crecimiento de las diferentes colonias y se aislaron las más significativas realizando diferentes repiques hasta obtener cultivos puros, comprobándose por medio de coloración de gram. Posteriormente, el cultivo puro fue emulsionado en caldo tripticase de soya más glicerol al 3% y alicuotadas en viales de congelación para ser preservadas a - 85°C.

#### 4.5.1 IDENTIFICACION

Para la identificación de los microorganismos fueron descongelados a temperatura ambiente, recuperadas en agar sangre e incubados durante 24 horas. Luego se llevó a cabo la identificación de los microorganismos utilizando pruebas bioquímicas, incluyendo Catalasa (**Anexo # 2**) para los cocos grampositivos (**Esquema # 1**), coagulasa (**Anexo # 3**) para los catalasa positivo para la identificación de *Staphylococcus*, se observó la producción de hemólisis alfa, beta en los catalasa negativo y donde había hemólisis alfa se hizo la prueba de resistencia a la optoquina para *S. viridans* (**Anexo # 4**) y para la identificación de bacilos gram positivos (**Esquema # 2**).

#### 4.6 CULTIVO DE ANAEROBIOS

En cuento a la identificación de microorganismos anaerobios primero fueron cultivados en Agar Fenil Etil Alcohol (FEA) (**Anexo # 5**), Shaedler (**Anexo # 6**) y Chocolate, fueron incubados en cámara de anaerobiosis por 72 horas y posteriormente fue observado el crecimiento de las diferentes colonias, y se procedió al aislamiento de las más significativas. Se utilizó la técnica de gram para verificar la pureza de los cultivos, a los repiques con dos o más cepas diferentes fueron sometidas a nuevos aislamientos hasta obtener cultivos totalmente puros, para luego ser preservadas en emulsión en caldo tripticasa de soya más glicerol al 3%, en viales de congelación a - 85°C, hasta el momento de la identificación. Después que se obtuvieron los cultivos puros de cada tipo de colonia encontrada en las muestras, se

procedió a descongelarlas a temperatura ambiente y fueron recuperadas nuevamente en Agar Shaedler, incubadas en cámara de anaerobios durante 72 horas.

#### 4.6.1 IDENTIFICACION

Se utilizó el sistema de identificación BBL CRISTAL para anaerobios, sistema que permite por medio de pruebas bioquímicas la determinación de especies bacteriana anaerobias (**Anexo # 7**). Este sistema requiere los resultados previos de la tinción de Gram y de las pruebas de catalasa e indol. Los paneles del sistema BBL CRISTAL ANR ID contienen 29 substratos bioquímicos y enzimáticos deshidratados. Para rehidratar los substratos fue utilizada una suspensión de bacterias en el fluido de inóculo, este fluido es un tubo que contiene solución salina que viene con el sistema BBL CRISTAL ANR ID. Las pruebas usadas en el sistema se basan en la utilización y degradación microbiana de substratos específicos detectados por varios sistemas indicadores (**Anexo # 8**).

#### 4.6.2 LECTURA

Después de un periodo de incubación de 12 horas, se examinaron los pocillos para determinar cambios de color o presencia de fluorescencia que resultan de las actividades metabólicas de los microorganismos, usando la luz UV de un trasniluminador de la filas A a F y las columnas G a J, usando la luz blanca.

La serie de colores resultante de las 29 reacciones se convierte en un numero de perfil de diez dígitos que se utiliza para la identificación, por medio de la base de datos BBL CRISTAL ANR apropiada para anaerobios.

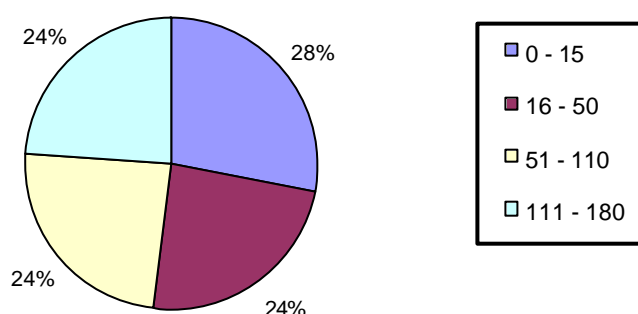
## 5. RESULTADOS

La población en estudio fueron niños entre los 0 y 6 meses de edad, en etapa pre dental y sistémicamente sanos. La muestra se recogió por medio de un escobillón estéril con el que se realizó un barrido de las superficies orales.

La distribución de los cuatro grupos en estudio de las 25 muestras se describe a continuación:

### 5.1 Gráfico # 1

**Distribución de la muestra por grupos etareos en días**



**Gráfico 1.** Resultados de los cuatro grupos de niños en días.

Para la identificación inicial de los géneros bacterianos presentes en las muestras, se utilizaron técnicas como coloración de gram, y pruebas bioquímicas.

Los microorganismos que se encontraron en mayor proporción en las 25 muestras analizadas de niños de 0 a 180 días de edad en etapa pre dental, fueron el *Streptococcus viridans* con un 72% (18 casos), seguido por *Enterococcus* con un 68% (17 muestras) y *S. intermedius* con 52% (13 casos) (**Tabla #1**) (**Gráfico # 2**).

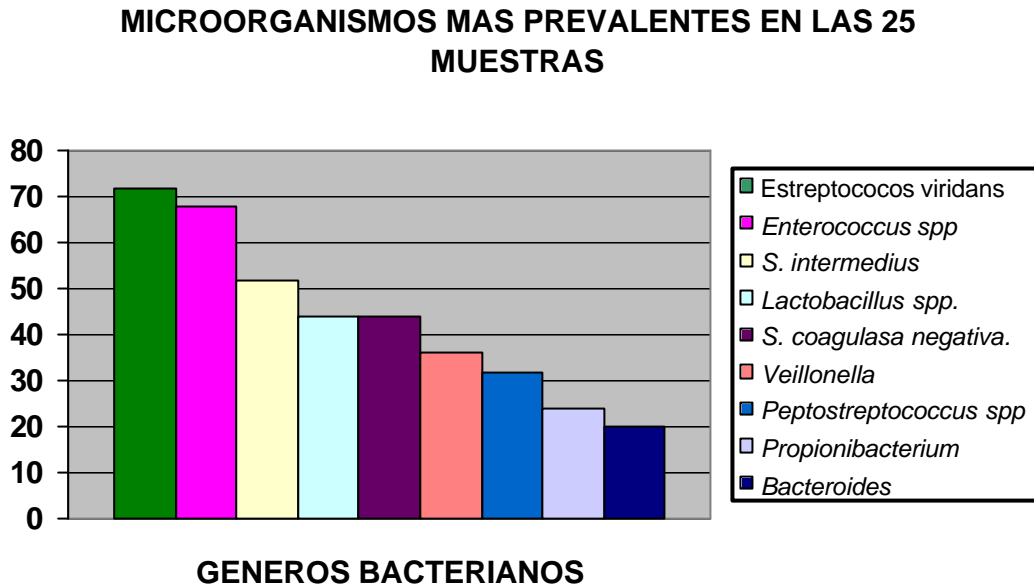
5.1.1 TABLA # 1

**RESULTADOS DE LOS MICROORGANISMOS MÁS ENCONTRADOS EN LAS 25 MUESTRAS**

MICROORGANISMO	# CASOS	(%)
Estreptococos viridans	18	72
<i>Enterococcus spp</i>	17	68
<i>S. intermedius</i>	13	52
<i>Lactobacillus spp.</i>	11	44
<i>S.coagulasa negativa.</i>	11	44
<i>Veillonella spp.</i>	9	36
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	8	32
<i>Propionibacterium</i>	6	24
<i>Bacteroides spp.</i>	5	20
<i>S.beta hemoliticus</i>	5	20
<i>Leptotrichia bucalis</i>	4	16
<i>Actinomyces spp.</i>	3	12
<i>Clostridium spp.</i>	3	12
<i>S.saccharolyticus</i>	1	4
<i>S.aureus</i>	1	4
<i>Ruminococcus spp.</i>	1	4

**Tabla 1.** Microorganismos más encontrados en las 25 muestras.

2.1.2 Gráfico # 2



**Gráfico 2.** Distribución de los microorganismos más encontrados en las 25 muestras.

Los principales resultados obtenidos del grupo 1 (0-15 d, n=7), indican que los microorganismos aislados en mayor proporción fueron cocos gram positivos, seguidos por los bacilos gram positivos, siendo los géneros bacterianos más sobresalientes *Enterococcus* que fue encontrado en el 100% de las muestras de este grupo, seguido por *S. intermedius* 85% y *Estreptococos viridans* 71% (**Tabla # 2**).

El grupo 2 (16-50 d, n = 6), presentó mayor proporción de cocos gram positivos, seguidos por bacilos gram positivos. El género bacteriano más sobresaliente fue *Enterococcus* en un 66% de las muestras, seguido por *Staphylococcus coagulasa negativo* 50%, *Estreptococos viridans* 66% y *Lactobacillus spp* 50% (**Tabla # 2**).

El grupo 3, (51-110 d, n = 6), presentó mayor proporción de cocos gram positivos, seguidos por cocos gram negativos y bacilos gram positivos, siendo los géneros

encontrados con mayor frecuencia en este grupo de muestras, *Estreptococos viridans* en un 66%, *Staphylococcus coagulasa negativo* 66%, *Enterococcus* 66%, *Veillonella* spp 66%, *Lactobacillus* spp 50% y *Peptostreptococcus* spp 50%.

El grupo 4 (111-180 d, n = 6), donde se encontró igual proporción de cocos gram positivos y bacilos gram positivos seguidos por cocos gram negativos. Los géneros bacterianos identificados fueron *Estreptococos viridans* 83%, *Streptococcus intermedius* 66%, *Lactobacillus* spp 50% y *Veillonella* spp 50% (**Tabla # 2**).

## 5.2 TABLA # 2

### GÉNEROS BACTERIANOS MÁS PREVALENTES EN LOS CUATRO GRUPOS ETAREOS

MICROORGANISMO	0-15 DIAS %	16-50 DIAS %	51-110 DIAS %	111-180 DIAS %
<i>Enterococcus spp.</i>	100	66	66	33
<i>Estreptococos viridans</i>	71	66	66	83
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	28	33	50	16
<i>Propionibacterium</i>	14	16	33	33
<i>Lactobacillus spp.</i>	0	50	50	50
<i>Veillonella spp.</i>	0	33	66	50
<i>S. intermedius</i>	85	0	16	66
<i>S.coagulasa negativa.</i>	28	50	66	0
<i>Bacteroides spp.</i>	28	16	16	0
<i>S.beta hemolyticus</i>	28	16	0	16
<i>Leptotrichia bucalis</i>	0	33	16	16
<i>Actinomyces spp.</i>	0	16	0	16
<i>Clostridium spp.</i>	0	0	33	16
<i>S.saccharolyticus</i>	0	16	0	0
<i>S.aureus</i>	0	0	16	0
<i>Ruminococcus spp.</i>	0	16	0	0
OTROS	28	33	16	28

**Tabla 2.** Variabilidad de Microorganismos encontrados en los cuatro grupos de niños por edad.

Se encontró un alto porcentaje de *Enterococcus* en todos los grupos, obteniéndose una presencia del 100% en las muestras del primer grupo, seguido por *Estreptococos viridans* con el 83% en el último grupo (Gráfico # 3).

### 5.2.1 Gráfico # 3

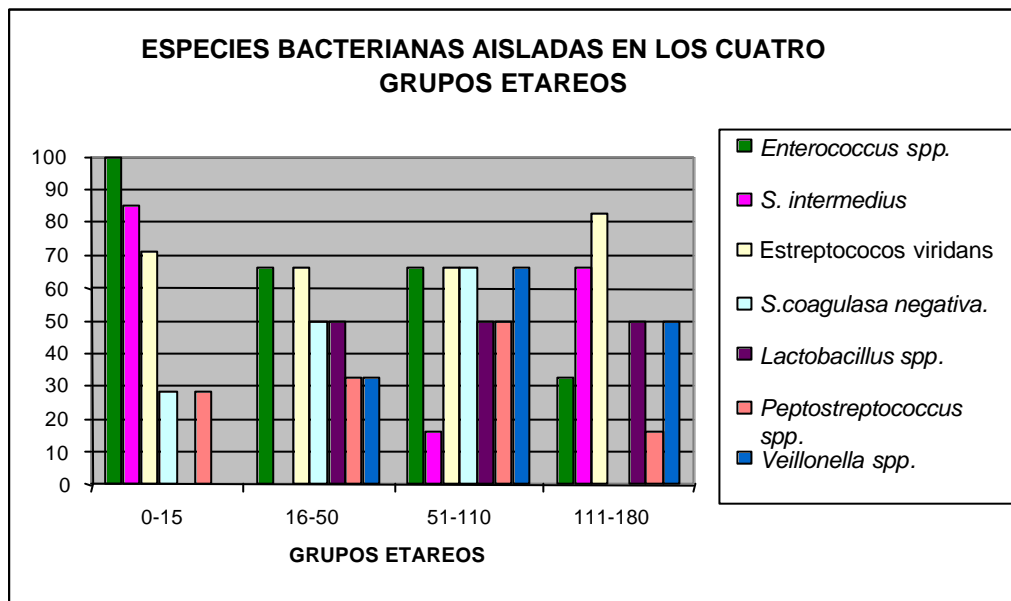


Gráfico 3. Distribución de las especies más prevalentes en los diferentes grupos.

Según los resultados de los microorganismos encontrados en las 25 muestras de las cuales 13 son niños del género femenino, se identificó con mayor frecuencia *Estreptococos viridans* 76%, y en los 12 niños del género masculino el microorganismo predominante fue *Enterococcus spp* con un 75% (Tabla 3 y 4) (Gráfico # 4 y 5).

### 5.3 TABLA # 3 IDENTIFICACION DE LOS MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN LOS NIÑOS DEL GENERO FEMENINO

	#	
MICROORGANISMO	CASOS	%
	N# 13	
<i>Estreptococos viridans</i>	10	76
<i>Enterococcus spp.</i>	8	61
<i>Lactobacillus spp.</i>	6	46
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	5	38
<i>S. intermedius</i>	5	38
<i>Propionibacterium</i>	4	30
<i>Vellonella spp.</i>	4	30
<i>S.coagulasa negativa.</i>	4	30
<i>Bacteroides spp.</i>	2	15
<i>Leptotrichia bucalis</i>	2	15
<i>Actinomyces spp.</i>	2	15
<i>Clostridium spp.</i>	2	15
<i>S.beta hemoliticus</i>	1	7
<i>S.saccharolyticus</i>	1	7
<i>S.aureus</i>	0	0
<i>Ruminococcus spp.</i>	0	0

#### 5.4 TABLA # 4

### IDENTIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN LOS NIÑOS DEL GENERO MASCULINO

	#	
MICROORGANISMO	CASOS	%
	N # 12	
<i>Enterococcus spp.</i>	9	75
<i>Estreptococos viridans</i>	8	66
<i>S. intermedius</i>	8	66
<i>S.coagulasa negativa.</i>	7	58
<i>Lactobacillus spp.</i>	5	41
<i>Vellonella spp.</i>	5	41
<i>S.beta hemoliticus</i>	4	33
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	3	25
<i>Bacteroides spp.</i>	3	25
<i>Propionibacterium</i>	2	16
<i>Leptotrichia bucalis</i>	2	16
<i>Actinomyces spp.</i>	1	8
<i>Clostridium spp.</i>	1	8
<i>S.aureus</i>	1	8
<i>Ruminococcus spp.</i>	1	8
<i>S.saccharolyticus</i>	0	0

5.3.1 Gráfico # 4

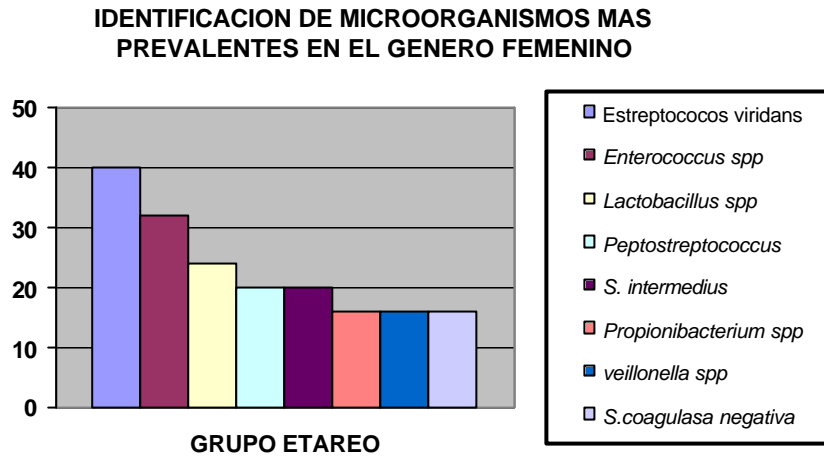


Gráfico 4. Distribución de los microorganismos encontrados en el género femenino.

5.4.1 Gráfico # 5

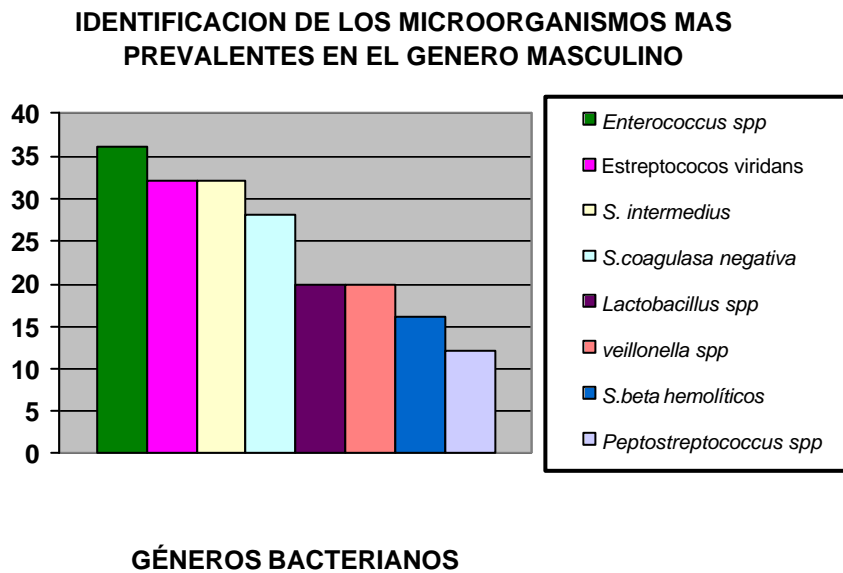


Gráfico 4. Distribución de los microorganismos encontrados en el género masculino.

Según los datos obtenidos de la encuesta que se les realizó a los niños, se tuvieron en cuenta para el estudio las siguientes variables: Niños lactantes con hábito de succión digital y niños lactantes con uso de tetero ya que en las 25 encuestas obtenidas todos los niños lactaban y solo 9 de los niños presentaban succión digital y 7 hicieron uso de tetero. Los resultados obtenidos son los siguientes:

### 5.5 TABLA # 5

#### TABLA REPRESENTATIVA DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN NIÑOS QUE LACTAN Y TIENEN HABITO DE SUCCION DIGITAL

MICROORGANISMO	# DE CASOS	
	N # 9	(%)
<i>Enterococcus spp.</i>	5	55
<i>Lactobacillus spp.</i>	4	44
<i>Streptococcus viridans</i>	4	44
<i>S.intermedius</i>	4	44
<i>S.beta hemolyticus</i>	4	44
<i>S.coagulasa negativa</i>	3	33
<i>Leptotrichia bucalis</i>	3	33
<i>Clostridium spp.</i>	2	22
<i>Veillonella spp.</i>	2	22
<i>Propionibacterium</i>	2	22
<i>Actinomyces spp.</i>	2	22
<i>Bacteroides spp</i>	2	22
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	1	11
<i>Ruminococcus spp</i>	0	0
<i>S.aureus</i>	0	0
<i>S.saccharolyticus</i>	0	0

**Tabla 5.** Microorganismos encontrados en niños lactantes y que tienen hábito de succión digital.

5.6 TABLA # 6

**TABLA REPRESENTATIVA DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN NIÑOS QUE LACTAN Y USAN TETERO**

MICROORGANISMO	# DE CASOS N # 7	(%)
<i>Estreptococos viridans</i>	5	71
<i>Enterococcus spp.</i>	4	57
<i>Lactobacillus spp.</i>	4	57
<i>Veillonella spp.</i>	4	57
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	3	42
<i>S.intermedius</i>	3	42
<i>S.coagulasa negativa</i>	3	42
<i>Propionibacterium</i>	2	28
<i>Leptotrichia bucalis</i>	1	14
<i>S.aureus</i>	1	14
<i>Ruminococcus spp</i>	0	0
<i>S.beta hemoliticus</i>	0	0
<i>Bacteroides spp.</i>	0	0
<i>Actinomyces spp.</i>	0	0
<i>Clostridium spp.</i>	0	0
<i>S.saccharolyticus</i>	0	0

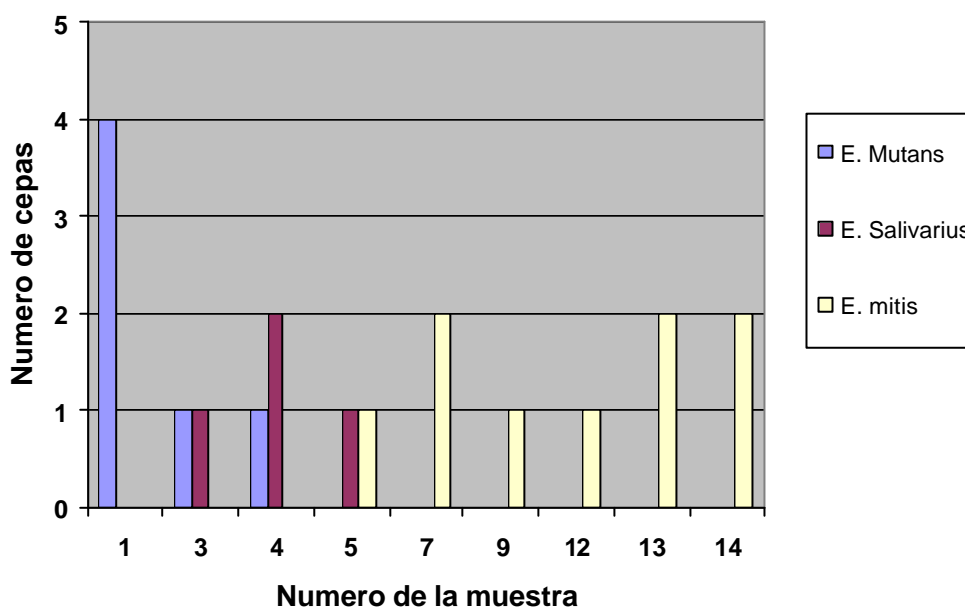
**Tabla 6.** Microorganismos encontrados en niños lactantes y que usan tetero.

Según los resultados de las tablas se pudo observar que el microorganismo más sobresaliente fue la *Veillonella spp* con un 57% en los niños que lactan y usan tetero.

En el estudio, los resultados de las 14 muestras a las que se les realizó identificación de los grupos de *Streptococcus viridans*, utilizando las pruebas de Manitol, Voges Proskauer (VP) y Arginina dehidrolasa (ADH), indican la presencia de una alta cantidad de cepas de *mutans*, seguido por *mitis* y *salivarius*, esta descripción se observa en **Gráfico #6, Tabla # 7 (Anexo # 10 )**.

### 5.7 Gráfico # 6

**Clasificación de *Streptococcus viridans* en 14 muestras**



**Gráfico 6.** Distribución del grupo de *Streptococcus viridans* encontrados en las 14 muestras analizadas.

## 5.7.1

## TABLA # 7

**CLASIFICACIÓN DE ESTREPTOCOCOS VIRIDANS EN 14 MUESTRAS**

# MUESTRA	# COLONIA	VP	MANITOL	ADH	IDENTIFICACIÓN
001-	00103-	-	P	P	Estreptococo mutans
	00104-	-	P	P	Estreptococo mutans
	00105-	-	P	P	Estreptococo mutans
	00106-	-	P	P	Estreptococo mutans
003-	00301-	-	P	P	Estreptococo mutans
	00306-	P	N	N	Estreptococo salivarius
004-	00402-	P	N	N	Estreptococo salivarius
	00405-	P	N	N	Estreptococo salivarius
	00407-	-	P		Estreptococo mutans
005-	00504-	N	-	N	Estreptococo mitis
	00509-	P	N	N	Estreptococo salivarius
007-	00702-	N	-	N	Estreptococo mitis
	00710-	N	-	N	Estreptococo mitis
009-	00903-	N	-	N	Estreptococo mitis
012-	01202-	N	-	N	Estreptococo mitis
013-	01301-	N	-	N	Estreptococo mitis
	01303-	N	-	N	Estreptococo mitis
014-	01401-	N	-	N	Estreptococo mitis
	01403-	N	-	N	Estreptococo mitis

Tabla 7. Identificación del grupo de *Streptococcus viridans* mediante las pruebas de Manitol, Voges proskauer (VP) y Arginina dehidrolasa (ADH).

## 6. DISCUSIÓN

En las 25 muestras, se encontró una gran variedad de microorganismos siendo el género encontrado en una mayor proporción *Streptococcus viridans* 72%, seguido por *Enterococcus spp* 68%. Los *Streptococcus* tienen su hábitat principal en la cavidad oral y están claramente implicados en la colonización de superficies duras y blandas de la misma. Los *Enterococcus spp*, tienen una importancia dudosa en la ecológica oral, han sido aislados como parte de la microflora normal de la mucosa, el dorso de la lengua y la placa dentobacteriana.<sup>37</sup> Estos dos grupos fueron encontrados en proporciones altas en los 4 grupos distribuidos por edades, a sí mismo se encontraron *Streptococcus intermedius* 52%, *Lactobacillus spp.* 44% y *Staphylococcus coagulasa negativa* 44%. *S. intermedius* tiene una distribución muy amplia pudiendo encontrarse en la placa dentobacteriana, nasofaringe, intestino, piel etc. En el presente estudio, este microorganismo fue detectado con una alta frecuencia en el grupo 1, posiblemente debido a la lactancia materna ya que el niño mantiene en contacto con la piel del seno de la mamá. En cuanto a *Lactobacillus spp.* estos se aíslan principalmente de la saliva, el dorso de la lengua y la placa dentobacteriana supragingival, y, con respecto a su hábitat, otros estudios demuestran que se puede encontrar en forma constante en la boca, debido a que aprovechan las condiciones ácidas y la retentividad existente en la lesión cariosa, además se les considera invasores secundarios, son grandes productores de ácido láctico, presentan poca afinidad por las superficies dentarias y en consecuencia no se les implica en el

---

37. LIÉBANA, José. U. Microbiología Oral. España: Mc-Graw-Hill, 1997. P. 227,238

comienzo de la caries de esmalte<sup>38</sup>. En cuanto a los *Staphylococcus*, los datos indican que promedian aproximadamente un 2% de la cuenta viable del surco gingival y alrededor del 6,5% del dorso de la lengua.<sup>39</sup>

La literatura señala que en este tipo de casos los microorganismos predominantes son grampositivos. Rotimi encontró que el primer día de vida el 35% de los recién nacidos estaban colonizados por *Staphylococcus coagulasa negativa*,<sup>40</sup> y en el presente estudio se observó una frecuencia similar.

Con respecto a los microorganismos que no se encontraron en el primer grupo, como *Veillonella spp*, *Actinomyces spp*, *Lectotrichia bucalis*, *Lactobacillus spp*, y *Clostridium spp*, son microorganismos que se encuentran normalmente en el surco gingival, donde hay flujo de exudados líquidos, que crean un ambiente favorable para las comunidades de microbios anaerobios y anaerobios facultativos. Algunos tipos de microbios se encuentran constantemente en esas áreas específicas de la cavidad bucal como la *Veillonella spp*<sup>41</sup>. Según nuestro estudio este microorganismo está ausente en el primer grupo debido a que no encuentra condiciones favorables de nutrientes para su subsistencia, ya que el valor de la dieta como soporte nutricional de la microbiota oral es muy limitada. La aparición repentina de esta bacteria, se debe a que

---

38. Ibit. LIEBANO.Cit, P.258

39. BURNETT, George. W. Microbiología Oral y Enfermedad Infecciosa, Editorial Médica Panamericana S.A, 1982. P.180.

40. Torres Alipi B, Fragoso RA, Martínez LJ, Baptista GH. Colonización Bacteriana de la Cavidad Oral del recién nacido. Boletín Médico Hospital Infantil de México, 1990; 47 (2): 78-84.

41. NOLTE, William. A. Microbiología Odontológica, Editorial interamericana, México, 1984. p. 188

hay un incremento de otros microorganismos que producen ciertas sustancias favorables (como lactato), y posee sistemas especiales de resistencia al oxígeno, como la superóxido dismutasa que permiten la adaptación a sus necesidades y a los cambios ambientales.<sup>42</sup>

Así mismo la distribución de los microorganismos se vera condicionada por la disponibilidad de nutrientes en las distintas localizaciones de la boca, por la competencia microbiana sobre sustratos, producción de peróxido de hidrógeno y bacteriocinas, y especialmente por consumo de oxígeno con lo que las bacterias mas aerobias van siendo sustituidas por anaerobias y anaerobias facultativas<sup>43</sup>, por lo tanto puede ser la causa de disminución de *S. coagulans*, *Enterococcus* y *Bacteroides spp* en el grupo de niños de mayor edad.

Los *Streptococcus beta hemolyticus* son microorganismos transitorios se encuentran generalmente escasos en la cavidad oral, donde en ocasiones originan infección local o sistémica, probablemente derivan de la oronasofaringe y no deberían ser considerados como parte de la flora residente.

*Streptococcus viridans* tienen su hábitat principal en la cavidad oral, y algunas especies están claramente implicadas en la colonización de superficies duras y blandas de las mismas. Bajo la denominación de *Streptococcus viridans* se incluye un amplio numero de estreptococos basándose fundamentalmente en criterios fisiológicos, quimiogénéticos y nutricionales, se admiten los siguientes grupos: *mutans*, *mitis*, *salivarius*, *sanguis*<sup>44</sup>.

---

42. LIÉBANA, José Ureña, Microbiología Oral, Ed Interamericana, Madrid, 1995. Pag 416-420.

43. FURMAN, Evelyn Kahn, Caracterización e identificación del Género *Veillonella* en cavidad oral, 1987.

44. LIÉBANA, José Ureña, Microbiología Oral, Ed Interamericana, Madrid, 1995.p. 430-431.

Por lo general *Streptococcus* del grupo mutans se encuentra en la placa supragingival y se identifica en niños en etapa dental ya que sintetizan polímeros extracelulares solubles (dextranos, fructanos) e insolubles (mutanos) a partir de la sacarosa, según Tappuni (1992), la mayor frecuencia de este microorganismo se presenta en aislamientos provenientes de niños en etapa dental y predental, y concluye que la frecuencia de aislamiento de mutans incrementa con la edad<sup>45</sup>, en este estudio fueron identificados microorganismos del grupo mutans en niños en etapa predental, confirmando lo dicho anteriormente, debido a que este microorganismo tiene la habilidad de producir ácido láctico al metabolizar la sacarosa.

Con respecto a *Streptococcus* del grupo salivarius, que es uno de los primeros microorganismos que infectan la cavidad bucal del niño después del nacimiento y que se encuentran en las hendiduras del dorso de la lengua y la saliva y que no ha sido relacionado con caries dental, razón por la cual se le considera un verdadero comensal. Carlsson, y Ross y Hecham señalan, que los microorganismos de este grupo se establecen como parte de la flora oral del neonato a partir del segundo día de vida, siendo adquiridos de la madre y de las personas que lo atienden.<sup>46</sup> *Streptococcus* del grupo salivarius son encontrados en este estudio primordialmente en niños entre 12 y 84 días de edad.

---

45. Tappuni A.R, Challacombe S.J. Distribution and isolation Frequency of Eight Streptococcal Species in Saliva from Predentate and Dentate Children and Adults. J Dent Res, 1993, 72(1):31-3

46. Ross JM, Hecham JR. Genital flora during pregnancy and colonization of the new born. JR Soc Med 1980; 73:105-110.

Con respecto al grupo de *Streptococcus mitis* que se encuentra normalmente en la mucosa de la cavidad bucal y el dorso de la lengua, tienen la capacidad de producir ácido a partir de la fermentación de la glucosa y actividad de IgA<sub>1</sub> proteasa permitiendo la colonización bacteriana en los niños en estudio<sup>47, 48</sup>.

Se tuvieron en cuenta algunos datos de la encuesta con el fin de observar si se producían diferencias en la adquisición de los géneros bacterianos según la presencia de diferentes características en la población. En cuanto al género Femenino y Masculino de los bebés no se observaron diferencias, lo que indica que el género de los bebés no influye en la adquisición temprana de los diferentes géneros bacterianos de la cavidad oral. Los niños lactantes y con hábito de succión digital, y los niños lactantes con uso de tetero, fueron distribuidos en dos grupos porque los 25 niños lactaban y sólo 9 presentaban succión digital y 7 hacían uso de tetero. En estos dos grupos se encontró similitud en los diferentes microorganismos aislados.

Se encontró que la gran mayoría de las bacterias anaerobias presentes en etapa dental también pueden aparecer en niños en etapa pre dental, además se observó que los niños de 0 a 6 meses de edad presentan una gran variedad de géneros bacterianos debido a las diferentes condiciones que ofrece este ecosistema, al contacto con la mamá, con personal de higiene y allegados, lo que favorece la permanencia de estos microorganismos.

---

47. Hegde S. Munshi AK. Influence of the maternal vaginal microbiota on the oral microbiota of the newborn. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 1998; 22(4): 317-321.

48. Socransky S.S. Manganiello S.D. The Oral Microbiota of Man From Birth to Senility. *J Periodont*, 1971;42 (8):485-494.

## 7. CONCLUSIONES

- ? Se aislaron y determinaron los diferentes microorganismos presentes en la cavidad oral de niños de 0 a 180 días de edad en etapa pre dental.
  
- ? Los microorganismos predominantes encontrados en las 25 muestras analizadas fueron *Streptococcus viridans*, *Enterococcus spp.*, *S. intermedius*, *Lactobacillus spp.*, *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Veillonella spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Bacteroides spp.*, *Streptococcus beta hemoliticus*, *Lectrotrichia bucalis*, *Actinomyces spp.* y *Clostridium spp.*
  
- ? Los microorganismos más sobresalientes en los diferentes grupos de niños seleccionados por edad en días, fueron *Enterococcus spp.*, *Streptococcus viridans*, *Peptostreptococcus spp.* y *Propionibacterium spp.*
  
- ? Los grupos de *Streptococcus viridans* más significativos encontrados en las 14 muestras fueron *mutans* y *mitis*.
  
- ? No se encontraron diferencias en la cantidad, ni en la calidad de géneros bacterianos según el género de los niños.

## 8. RECOMENDACIONES

- ? Realizar seguimiento a los niños que participaron en este estudio, para observar la evolución que presentan los géneros bacterianos con la edad y el cambio en los hábitos alimenticios.
- ? Realizar investigaciones que profundicen en cuanto a los microorganismos que la madre transmite al niño.
- ? Continuar con estudios relacionados con la microflora oral en niños en edades más avanzadas para buscar posibles diferencias.
- ? Realizar comparaciones de la microflora oral de niños en edad escolar, adolescentes y adultos para así encontrar las variedades de microorganismos existentes en cada grupo.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

BEIGHTON d, Hardie JM , Whiley RA Sheme for the identification of viridans streptococci J Med Microbiol 1991; 35 :367-372.

BERNARD, Henry, Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio, novena edición, Masson, S.A .Barcelona, España,1998, p. 1055.

BREA, Manuel López, Procedimientos en microbiología clínica, Recomendaciones de la sociedad Española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 1999.

BURNETT, George. W. Microbiología Oral y enfermedad infecciosa, Ed. Medica Panamericana S.A, 1982.P. 170-171.

BURNETT, George. W. Manual de Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca, Editorial Limusa, S.A, 1988.p. 234

CHERYL, Pearce, G. H. Bowden, Mishell Evans, Identificatio n of pioneer viridans streptococci in the oral cavity human neonates. J Med Microbiol, 1995; 42: 67-72.

EVELYN,Furman Kahn, Caracterización e identificación del Género *Veillonella* en cavidad oral. Bogota ,Junio de 1987.

ESCOBAR, Miriam, Microbiología de la cavidad Oral , Centro editorial Javeriano CEJA, 1999,p. 57-58.

Hegde S. Munshi AK. Influence of the maternal vaginal microbiota on the oral microbiota of the newborn. The Journal of Clinical Pediatric Dentistry 1998; 22(4): 317-321.

KONEMAN, Elmer, W. Diagnostico Microbiológico, Editorial Medica panamericana, quinta edición, 1999.

LIÉBANA, José Ureña, Microbiología Oral, Ed Interamericana, Madrid, 1995,p. 58, 92 278.

NOLTE, William. A. Microbiología Odontológica, México: Ed Interamericana, 1984.p. 193.

RESTREPO, Jorge M . Enfermedades Infecciosas, Quinta Edición, CIB, Medellín Colombia, 1996, p, 108.

ROSS JM, Hecham JR: Genital flora during pregnancy and colonization of the new born. JR Soc Med 1980; 73: 105-110.

SMIT DJ. Anderson JM, King WF, van Houte J, Taubman MA, Oral streptococcal colonization of infants. Oral Microbiol inmunol 1993; 8: 1-4.

Socransky S.S. Manganiello S.D. The Oral Microbiota of Man From Birth to Senility. J Periodont, 1971;42 (8):485-494.

TAPPUNI AR, CHALLACOMBE SJ. Distrubution and isolation frequency of eight streptococcal species in saliva from predentate and dentate children and adults. J Dent Res 1993,72(1):31-36.

TORRES AB, RAMIREZ FA, MATRINEZ JA , GONZALEZ BA. Colonización de la cavidad oral del recién nacido. Boletín Medicó Hospital Infantil de México 1990;47(2): 78-84.

WALTER J. Loesche, DMP,PhD, Association of the oral flora with important medical diseases. Current Opinion in Periodontology 1997, 4: 21-28.

## ANEXO # 1

### BASE AGAR SANGRE

Medio general no selectivo, que se puede enriquecer con sangre o suero.

FORMULA	g./l.
Polvo "lab-Lemco"	10,0
Peptona	10,0
Cloruro sódico	5,0
Agar	15,0
pH	7.3±0.2

### INSTRUCCIONES

Se suspenden 40 gramos en 1 litro de agua destilada y se hierve hasta disolver el medio por completo. Se esteriliza en autoclave a 121° C, durante 15 minutos.

Para el agar sangre, se enfria la Base a 50°C, y se añade 7% de Sangre de Caballo Desfibrinada SR50. Se mezcla con una rotación suave y se vierte en placas Petri u otros recipientes.

### DESCRIPCIÓN

La Base de Agar Sangre Oxoid es un medio no selectivo para fines generales, ampliamente utilizado para el crecimiento de bacterias patógenas y no patógenas:

- Con sangre, el medio, no solamente es enriquecido, sino que se hace adecuado para la determinación de las reacciones hemolíticas típicas, que son criterios diagnósticos importantes para estreptococos, estafilococos y otros

organismos. Para agar sangre, se debe añadir sangre estéril al 7% al medio esterilizado y enfriado a 45-50°C.

### **CONDICIONES DE CONSERVACION Y TIEMPO DE VIDA**

El medio deshidratado debe conservarse a temperatura inferior a 25°C, y ser utilizado antes de la fecha de caducidad señalada en la etiqueta. Conservar las placas preparadas a 2-8°C.



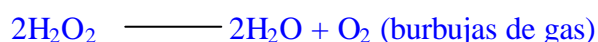
## ANEXO # 2

### CATALASA

#### PRINCIPIO

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) en agua ( $H_2O$ ) y oxígeno( $O_2$ ). Excepto los estreptococos, la mayor parte de las bacterias aerobias y anaerobia facultativas poseen actividad catalasa entre ellos se encuentran los Staphylococcus.

El peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales de oxidación del metabolismo aerobio de los hidratos de carbono. Si se permite que se acumule, resulta letal para las células bacterianas. La catalasa convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno según la siguiente reacción:



#### REACTIVOS

- ☞ Peróxido de hidrógeno al 3%.
- ☞ Cultivo de 18 a 24 horas del microorganismo a probar.

## **CONTROL DE CALIDAD**

✍ Control positivo : *Staphylococcus aureus*.

✍ Control negativo : *Streptococcus*

## **PROCEDIMIENTO**

Agregar una gota de solución de peróxido de hidrógeno al 3% sobre una lámina porta objetos y sobre esta solución se vierte una pequeña cantidad de la bacteria en crecimiento con una aguja de inoculación o con un palillo de madera, y observar la formación de burbujas.

## **INTERPRETACIÓN**

La aparición rápida y sostenida de burbujas o efervescencia constituye una reacción positiva. Debido a que algunas bacterias poseen enzimas distintas de la catalasa que pueden descomponer el peróxido de hidrógeno, la observación de unas pocas burbujas pequeñas después de 20 a 30 segundos no se considera un resultado positivo. Además, los eritrocitos poseen catalasa, por lo cual debe tenerse cuidado de no tomar eritrocitos junto con el material de la colonia.

### ANEXO # 3

## PRUEBA DE LA COAGULASA

### PRINCIPIO

La coagulasa es una proteína de composición química desconocida, que tiene actividad similar a la protrombina, capaz de convertir el fibrinógeno en fibrina, lo que da como resultado la formación de un coágulo visible en los sistemas apropiados. En el laboratorio , la prueba de coagulasa se utiliza para identificar *Staphylococcus aureus* y diferenciarlo de otras especies de estafilococos.

### MEDIOS Y REACTIVOS

Plasma de conejo con EDTA (en el comercio se obtiene en forma liofilizada). El plasma reconstituido se refrigera.

### CONTROL DE CALIDAD

La coagulabilidad del plasma se controla agregando una gota de cloruro de calcio al 5% a 0.5 mL del plasma reconstituido. Debe formarse un coágulo en el término de 10 a 15 segundos. Una cepa conocida de *Staphylococcus aureus* y una de *S. Epidermidis* pueden servir de control positivo y negativo, respectivamente. Cada frasco de plasma de cordero con EDTA reconstituido debe probarse con cultivos de 18 a 24 horas de las cepas control.

## **PROCEDIMIENTO**

Prueba en tubo: emulsionar una pequeña cantidad de la colonia del microorganismo en un tubo que contenga 0,5 mL de plasma para prueba de coagulasa. Incubar el tubo a 35°C durante 4 horas y observar si se forma un coágulo inclinado ligeramente el tubo. Si en ese momento no se observan coágulos, reincubar el tubo a temperatura ambiente y leer nuevamente después de 18 horas.

## **INTERPRETACION**

La prueba de coagulasa en tubo se considera positiva si se detecta cualquier grado de formación de coágulos. El tubo se inclina con suavidad y no se agita, debido a que la agitación puede deshacer los coágulos parcialmente formados. La fibrinólisis producida por los microorganismos también puede disolver los coágulos poco después de su formación. Los tubos que son negativos después de 4 horas se incuban a temperatura ambiente durante la noche y se leen después de 18 horas.

## **ANEXO # 4**

### **PRUEBA DE SENSIBILIDAD A LA OPTOQUINA**

#### **PRINCIPIO**

El clorhidrato de etildihidrocupreína (optoquina), un derivado de la quinina, inhibe en forma selectiva el crecimiento de *Streptococcus pneumoniae* a muy bajas concentraciones (5 microgramos/mL o menores). Asimismo, la optoquina puede inhibir otros estreptococos del grupo viridans, pero sólo a concentraciones mucho más altas. La prueba tiene una sensibilidad de más del 95%, es barata y sencilla de realizar.

#### **MEDIOS Y REACTIVOS**

1. Colonias bien aisladas en agar sangre de carnero del microorganismo a probar.
2. Placa de agar sangre de carnero.
3. Discos de optoquina (5 Microgramos).
4. Los discos deben conservarse a 4°C mientras no se utilizan.

## CONTROL DE CALIDAD

Control positivo: *Streptococcus pneumoniae*

Control negativo: Estreptococos del grupo viridans.

## PROCEDIMIENTO

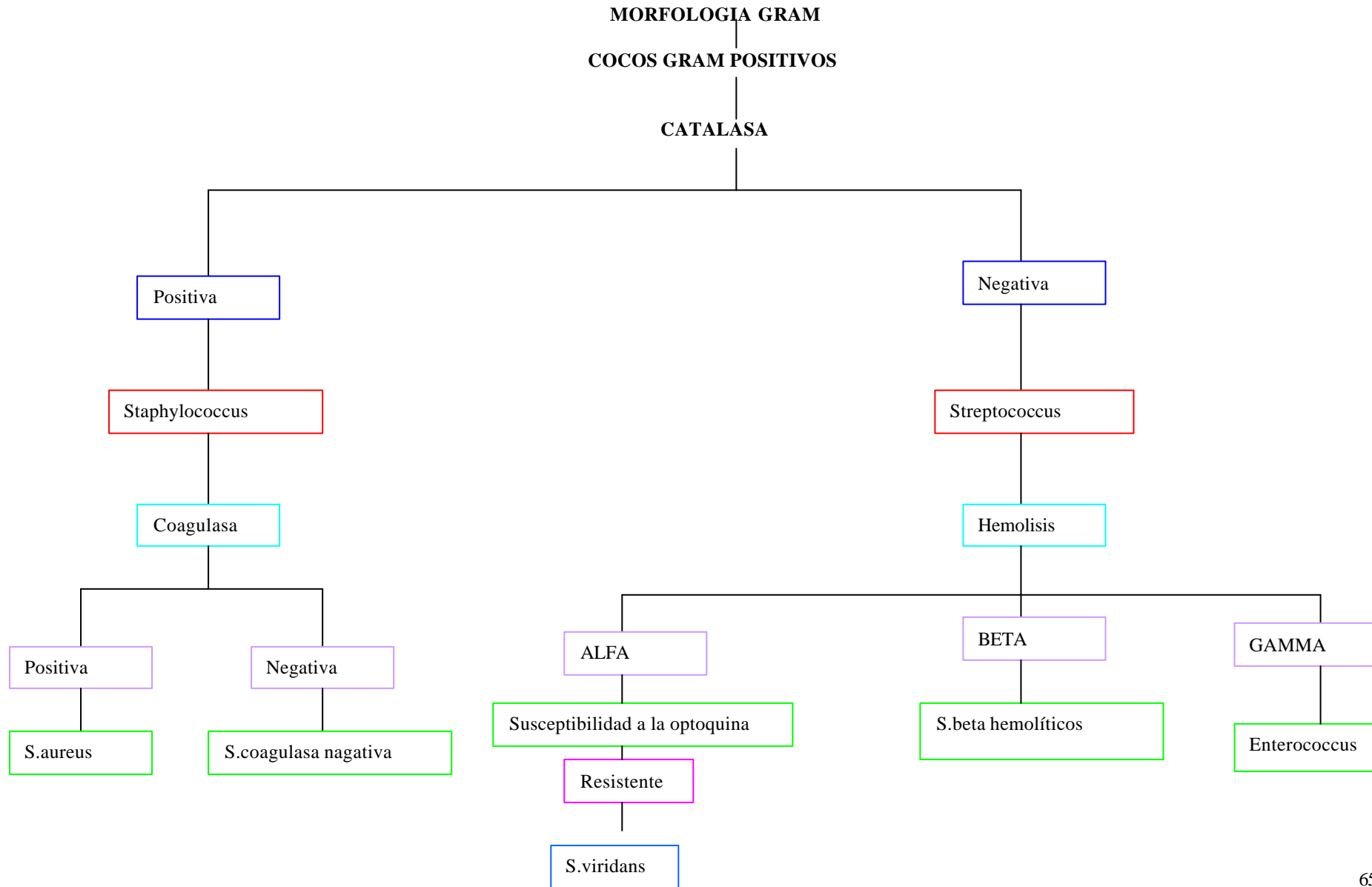
- ? Mediante un asa en argolla o una recta, selecciona tres o cuatro colonias bien aisladas del mismo microorganismo a probar y estriarlas en una mitad a un tercio de la placa de agar sangre.
- ? Colocar un disco de optoquina en el tercio superior del área sembrada. Presionar el disco con pinzas flameadas de tal forma que el disco se adhiera con firmeza a la superficie del agar.
- ? Incubar la placa a 35°C durante 18 a 24 horas en jarra con vela (5% de CO<sub>2</sub>).

## INTERPRETACIÓN

Un halo de 14 mm o más alrededor del disco de 6 mm indica sensibilidad a la optoquina e identifica al microorganismo como un neumococo. Si el halo es más pequeño de 14 mm, debe efectuarse una prueba de identificación alternativa como solubilidad en bilis, debido a que algunos *Streptococcus viridans* pueden mostrar pequeños halos de inhibición. Los *Streptococcus viridans* y los de grupo D son en general resistentes a la optoquina.

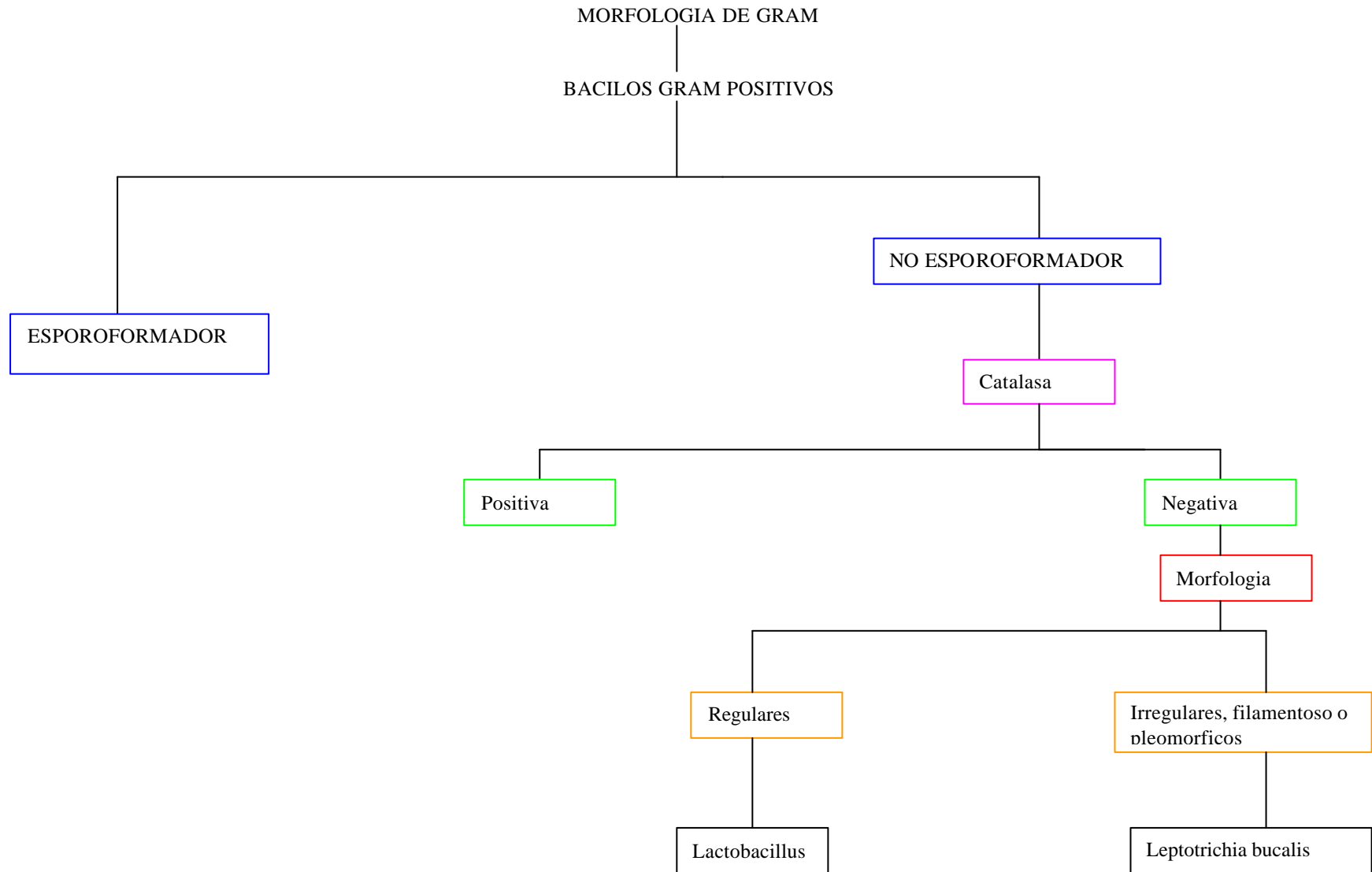
**ESQUEMA # 1**

DIAGRAMA DE IDENTIFICACIÓN DE COCOS GRAM POSITIVOS



ESQUEMA # 2

DIAGRAMA DE IDENTIFICACION DE BACILOS GRAM POSITIVOS



## **ANEXO # 5**

### **AGAR FENILETANOL**

Base para un medio selectivo para el aislamiento de organismos gram positivos.

### **INSTRUCCIONES**

Suspender 35,5 g del polvo en un litro de agua purificada. Mezcle bien caliente agitando frecuentemente y hierva durante 1 minuto para disolver completamente el polvo. Autoclave 121° C durante 15 minutos. Para preparar el agar sangre agregue asépticamente sangre defibrinada estéril al 5 % al medio cuando se haya enfriado a temperatura entre 45° C y 50° C mezcle bien.

### **FORMULA APROXIMADA POR LITRO**

Digerido pancreático de caseína	8,0g
Peptona de proteosa N.3	4,0g
Extracto de res	1,0g
Cloruro de sodio	5,0g
Agar	15,0g
Feniletatol	2,5g

## ANEXO # 6

### AGAR ANAEROBICO SHAEDLER

*Medio libre de tioglicolato para el crecimiento de organismos anaerobios y aerobios*

FORMULA	g./l.
Caldo de Triptona-Soja (Oxoid CM 129)	10,0
Peptona especial	5,0
Extracto de levadura en polvo	5,0
Dextrosa	5,0

Clorhidrato de cisteína	0,4
Hemina	0,01
Tampón Tris	0,75
Agar	13,5

pH 7.6±0.2

### **INSTRUCCIONES**

Se suspenden 40g en un litro de agua destilada y se lleva a ebullición hasta disolver el medio por completo. Se esteriliza en el autoclave a 121°C, durante 15 minutos. Se mezcla bien antes de verter.

### **DESCRIPCIÓN**

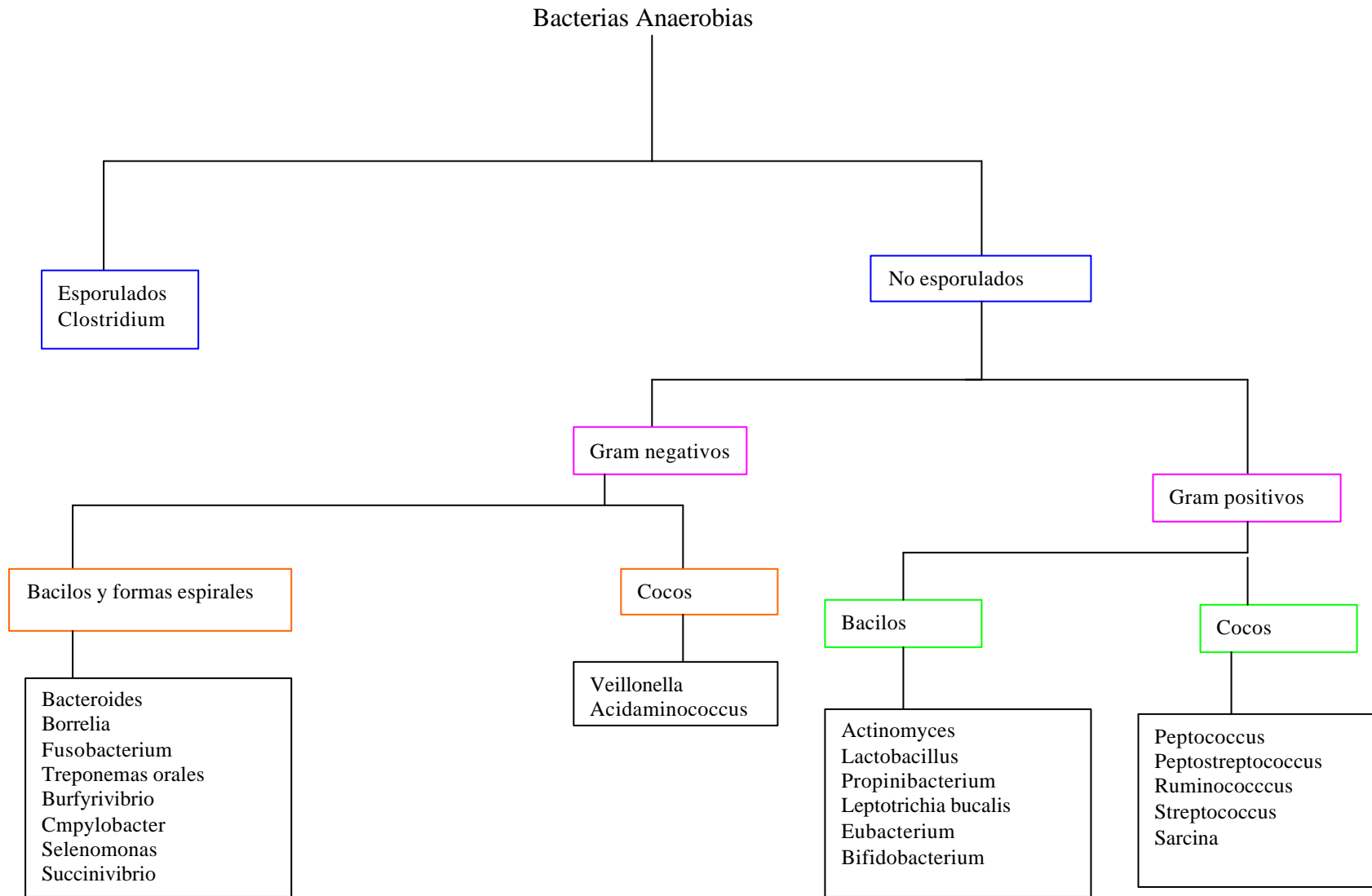
El Agar Anaerobico Schaedler CM 437 contiene clorhidrato de cisteína y glucosa, como sustancias reductoras, con la ventaja que la cisteína inhibe el desarrollo de la Escherichia coli.

## **CONDICIONES DE CONSERVACION Y TIEMPO DE VIDA**

Conservar el medio deshidratado a menos de 25°C, y utilizarlo antes del plazo de caducidad expresado en la etiqueta. Las placas preparadas a 2-8°C convenientemente protegidas.



GENEROS DE BACTERIAS ANAEROBIAS



**ANEXO  
# 8**

Reactivos usados en el sistema BBL CRYSTAL ANR ID

Posicion en el panel	Substrato	Codigo	Pos	Neg	Igredientes activos	Cantidad aprox. (g/l)
4 A	Control Fluorescente negativo	FCT	n/a	n/a	Derivado cumarínico fluorescente	< 1
2 A	L-arginina-AMC	FAR	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	L-arginina-AMC	<1
1 A	L-histidina-AMC	FHI	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	L-histidina-AMC	<1
4 B	4MU-alfa-D-manósido	FAM	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	4MU-alfa-D-manósido	<1
2 B	L-serina-AMC	FSE	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	L-serina-AMC	<1
1 B	L-isoleucina-AMC	FIS	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	L-isoleucina-AMC	<1
4 C	4MU-beta-D-manósido	FBM	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	4MU-beta-D-manósido	<1
2 C	Glicina-AMC	FGL	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	Glicina-AMC	<1
1 C	L-alanina-AMC	FAL	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	L-alanina-AMC	<1
4 D	4MU-N-acetil-beta-D-Galactosaminida	FGA	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	4MU-N-acetil-beta-D-Galactosaminida	<1
2 D	L-acido piroglutámico-AMC	FPY	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	L-acido piroglutámico-AMC	<1
1 D	L-lisina-AMC	FLY	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	L-lisina-AMC	<1
4 B	L-metionina-ANC	FME	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	L-metionina-ANC	<1

2 B	4MU-beta-D-celobiopiranosido	FCE	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	4MU-beta-D-celobiopiranosido	<1
1 B	4MU-beta-D-Xilosiasa	FXY	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	4MU-beta-D-Xilosiasa	<1
2 F	L-leusina-AMC	FLE	Fluorescencia azul >pocillo FCT	Fluorescencia azul <pocillo FCT	L-leusina-AMC	<1
4 G	Disacárido	DIS	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Disacárido	<300
2 G	Furanosa	FUR	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Furanosa	<300
1 G	Piranososa	PYO	Dorado/amarillo	Naranja/rojo	Piranososa	<300
4 H	p-nitrofenil-alfa-D-galactósido	AGA	Amarillo	Incoloro	p-nitrofenil-alfa-D-galactósido	<7
2 H	p-nitrofenil-beta-D-galactósido	NPG	Amarillo	Incoloro	p-nitrofenil-beta-D-galactósido	<7
1 H	p-nitrofenil-fosfato	PHO	Amarillo	Incoloro	p-nitrofenil-fosfato	<7
4 I	p-nitrofenil-alfa-D-glucósido	AGL	Amarillo	Incoloro	p-nitrofenil-alfa-D-glucósido	<7
2 i	p-nitrofenil-N-acetil- Glucosaminida	NAG	Amarillo	Incoloro	p-nitrofenil-N-acetil- Glucosaminida	<7
4J	p-nitrofenil-alfa-L-fucósido	AFU	Amarillo	Incoloro	p-nitrofenil-alfa-L-fucósido	<7
2J	p-nitrofenil-beta-D-glucósido	BGL	Amarillo	Incoloro	p-nitrofenil-beta-D-glucósido	<7
1 J	L-alanil-L-alanina-p- Nitroanilida	ALA	Amarillo	Incoloro	L-alanil-L-alanina-p- Nitroanilida	<7

**ANEXO # 9**

**ENCUESTA**

# DE MUESTRA \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

# Cédula: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

Edad del Bebe: \_\_\_\_\_

Género: \_\_\_\_\_

Tiempo de gestación: \_\_\_\_\_ Tipo de parto: \_\_\_\_\_

Consumo de antibióticos neonato ,primeros 3 meses: SI ( ) NO ( )

Consumo de antibióticos de la madre: SI ( ) NO ( )

Enfermedades sistémicas neonatos, primeros 3 meses: SI ( ) NO ( )

Enfermedades sistémicas de la madre: SI ( ) NO ( )

Lactancia materna SI( ) NO ( )

Uso de tetero SI ( ) NO ( )

Uso de chupo SI ( ) NO ( )

Succión digital SI ( ) NO ( )

Higiene SI ( ) NO ( )

Personas con las que tiene mas contacto: \_\_\_\_\_

Lugar de recolección de la muestra: \_\_\_\_\_

## **ANEXO # 10**

### **CALDO BASE DE MANITOL**

FORMULA	g./l.
Peptona bacteriológica	5,0
Manitol	4,0
Fosfato de sodio	10,0

pH 7,1±0,2

### **INSTRUCCIONES**

Se suspenden 19g en un litro de agua destilada, se calienta hasta disolverlo, se mezcla bien y se distribuye en recipientes hasta alcanzar una profundidad de 5cm.

Se esteriliza en un baño hirviendo durante 10 minutos.

### **CONDICIONES DE CONSERVACION Y TIEMPO DE VIDA**

El medio deshidratado debe conservarse a menos de 25°C y será utilizado antes de la fecha de caducidad expresada en la etiqueta. El medio preparado a 2-8°C.

## **MEDIO MR-VP**

Base para llevar a cabo las pruebas de Rojo de metilo y Voges proskauer.

## **INSTRUCCIONES**

Suspenda 17g de polvo en 1 litro de agua purificada. Autoclave a 121° C durante 15 minutos.

## **FORMULA APROXIMADA POR LITRO**

Peptona tamponada	7,0g
Fosfato dipotásico	5,0g
Dextrosa	5,0g

## **ARGININA DEHIDROLASA (ADH)**

La producción de Amonia de Argininina fue determinada en un medio de Arginina.

### **FORMULA APROXIMADA POR LITRO**

Arginina	0.3%
Triptosa	0.5%
Extracto de levadura	0.5%
Fosfato dibasico de potasio	0.2%
Glucosa	0.05%

pH 7.0

## Género de Estreptococos

