



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



Carrera Cirujano Dentista

TERCER AÑO

ÁREA BIOLÓGICA

**Manual de Laboratorio del Módulo**  
**"Mecanismos Infecciosos y Respuesta Inmune del**  
**Sistema Estomatognático"**

Fecha de aprobación por el CAC: 03 de septiembre de 2021

Vigencia: 03 de septiembre de 2024



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	0	<b>2 /157</b>

**Manual de Laboratorio del módulo "MIRISE": "Plan de Estudios 2018"**

Dra. María Teresa de Jesús Zaragoza Meneses

C.D. Niria Rebeca Castro Rico

C.D. Esp. Diego Ulises Arellano García

QFB. María Elena Tejeda Rosales

C.D. Alejandro Muzquiz Shamosh

QBP. María Emelina Amil Estrada

C.D. Esp. Gabriela Alejandra Albiter Farfán

Dra. Marta Elena Castro Manreza

Esp. Lizete Martínez Boyer

C.D. Nadia Yamilet Aguirre Sigala

C.D. Erick Ricardo Ordaz Robles



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	3 /157

## Indice

INTRODUCCIÓN .....	5
OBJETIVO GENERAL .....	5
CRITERIOS DE EVALUACIÓN DEL LABORATORIO .....	6
REGLAMENTO DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA e INMUNOLOGÍA.....	8
Manejo de RPBI .....	10
Práctica No. 1 .....	11
FACTORES DE PATOGENICIDAD DE MICROORGANISMOS DE CAVIDAD BUCAL	
Práctica No. 2 .....	18
IDENTIFICACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS	
Práctica No. 3 .....	26
MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA EN CARIES DENTAL	
Práctica No. 4 .....	37
PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD A CARIES DENTAL	
PRÁCTICA No. 5 .....	43
MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA DE Mycobacterium (BAAR+)	
Práctica No. 6 .....	50
MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA EN PATOLOGÍA PULPARY ABSCESO DENTAL	
Práctica No. 7 .....	58
MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA EN ENFERMEDAD PERIODONTAL	
Práctica No. 8 .....	69
IDENTIFICACIÓN DE CANDIDA EN CAVIDAD ORAL	
Práctica No. 9 .....	78
ACCIÓN ANTIMICROBIANA DE ALGUNAS SOLUCIONES DE USO COMÚN EN LA PRÁCTICA ODONTOLÓGICA	
Práctica No. 10 .....	88
ANTIBIOGRAMA	



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	4 /157

Práctica No. 11.....	95
MECANISMOS DE DEFENSA INESPECÍFICOS EN CAVIDAD BUCAL	
Práctica No. 12 .....	101
REACCIONES DE PRECIPITACIÓN EN CAPILAR	
Práctica No. 13 .....	108
REACCIÓN DE PRECIPITACIÓN EN GEL (Ouchterlony)	
Práctica No. 14 .....	115
REACCIONES DE AGLUTINACIÓN	
Práctica No. 15 .....	121
FIJACION DE COMPLEMENTO	
Práctica No. 16 .....	127
CHOQUE ANAFILÁCTICO	
Práctica No. 17 .....	134
ANTIESTREPTOLISINAS	
Práctica 18 .....	142
DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS HETERÓFILOS COMO DIAGNÓSTICO DE MONONUCLEOSIS INFECCIOSA	
Práctica No. 19 .....	148
DETERMINACIÓN DEL TÍTULO DE ANTICUERPOS EN SALIVA Y SUERO CONTRA CEPAS POTENCIALMENTE CARIOGÉNICAS Y SU RELACIÓN CON EL ÍNDICE C.P.O.	
ANEXOS .....	154



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	5 /157

## INTRODUCCIÓN

El perfil profesional del Cirujano Dentista de la FES Zaragoza en el Plan de Estudios actual del tercer año de la carrera, promueve el conocimiento teórico-práctico que permita abordar el proceso salud-enfermedad en población adulta y mujer embarazada, realizando actividades de investigación que fundamentan el diagnóstico integral comunitario e individual así como la conducta odontológica a seguir para dar solución a las enfermedades bucales y sistémicas de la población, tomando en cuenta las técnicas y procedimientos indicados para dar solución a dichos problemas y la integración de los conocimientos teórico-prácticos adquiridos.

El módulo de Mecanismos Infecciosos y Respuesta Inmune del Sistema Estomatognático, se ubica en el tercer año de la carrera de Cirujano Dentista en el Plan de Estudios ya que, en este momento el alumno cuenta con los conocimientos necesarios para realizar diagnósticos integrales y establecer la conducta odontológica adecuada para cada paciente.

La parte práctica de este módulo complementa e integra los conocimientos teóricos que el alumno va adquiriendo durante el año escolar, manteniendo la congruencia vertical y horizontal, favoreciendo la integración del conocimiento en tiempo y forma con prácticas que apoyan el proceso enseñanza y aprendizaje.

## OBJETIVO GENERAL

El manual del módulo Mecanismos Infecciosos y Respuesta Inmune del Sistema Estomatognático (MIRISE) tiene como objetivo contribuir a la aplicación práctica de los conocimientos obtenidos en el componente teórico como parte del proceso de formación integral del estudiante del tercer año de la carrera de Cirujano Dentista en el área de microbiología e inmunología. De tal manera que permite al estudiante comprender de una mejor forma los aspectos fisiopatológicos que se presentan en el organismo humano como parte de los mecanismos de defensa, haciendo énfasis en cavidad oral. Siempre bajo las siguientes premisas:

- Apoyar los conocimientos adquiridos en la teoría mediante la demostración de fenómenos en prácticas.
- Favorecer el aprendizaje de los alumnos por medio de técnicas de laboratorio.
- Desarrollar en los estudiantes una actitud crítica por medio de la interpretación de los resultados de las prácticas, orientándolos hacia aspectos relacionados con su práctica profesional.
- Capacitar a los alumnos en el trabajo científico del laboratorio para promover el interés por la investigación científica.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	6 /157

## CRITERIOS DE EVALUACIÓN DEL LABORATORIO

- Para tener derecho a examen ordinario, el alumno deberá tener como mínimo un 80% de asistencia a las prácticas de laboratorio.
- La evaluación de laboratorio es determinada para cada alumno con base en los resultados obtenidos en:
  1. Diagrama de Flujo y Conocimientos previos
  2. Trabajo desarrollado durante la práctica.
  3. Reporte de la práctica así como su contenido.
  4. Exámenes formativos.
- El reporte de cada práctica, deberá ser entregado en la siguiente sesión de laboratorio, en el momento de tomar la asistencia (no se aceptan reportes extemporáneos).
- El reporte de cada práctica, se entregará en un folder adicional y deberá contener los siguientes apartados:
  - a) **OBJETIVO:** Se describe la importancia y finalidad de realizar la práctica.
  - b) **INTRODUCCIÓN:** Debe contener antecedentes históricos, generalidades del tema, fundamento y mecanismos de las reacciones o procesos que se llevan a cabo en la práctica.
  - c) **RESULTADOS:** Describir, dibujar o esquematizar los resultados de los procesos o reacciones que se efectuaron en la parte experimental.
  - d) **INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES:** describir cual es la interpretación que se hace de los resultados obtenidos en la parte experimental, relacionando éstos con los conceptos teóricos.
  - f) **CUESTIONARIO:** resolución de las preguntas del protocolo de prácticas.
  - g) **BIBLIOGRAFÍA:** Anotar los libros consultados según los criterios de Vancouver.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	7 / 157

En la evaluación del reporte de la práctica, se tomará la siguiente escala de calificación:

Puntaje:

a) Objetivo	1
B) Introducción	1
C) Resultados	2
D) Discusión y conclusiones	2
E) Cuestionario	2
F) Bibliografía	1

- Exámenes parciales: se realizarán cuatro evaluaciones parciales de laboratorio, de acuerdo al número y temática de las prácticas. Las evaluaciones no acreditadas se presentarán en primera y segunda vuelta.

***Para obtener una calificación aprobatoria, es necesario que las evaluaciones de todos los exámenes de laboratorio sean aprobatorias***

- La calificación total de laboratorio se determina con base al siguiente porcentaje:
  - a) Promedio de exámenes 50%
  - b) Promedio de reportes 40%
  - c) Promedio Diagramas de flujo y conocimientos previos 10%
- La calificación aprobatoria de laboratorio es indispensable para tener derecho a la calificación final del Módulo.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	8 /157

## CARRERA DE CIRUJANO DENTISTA

### REGLAMENTO DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA

- a. Toda persona que permanezca en el laboratorio deberá tener puesta una bata de manga larga.
- b. La asistencia a las prácticas de laboratorio es obligatoria y por lo tanto, se pasará lista a todos los integrantes del grupo al inicio de cada práctica.
- c. No se permitirá la entrada a ningún alumno, pasados quince minutos del inicio de la práctica.
- d. El grupo en general, es responsable de la limpieza y conservación del equipo y materiales comunes del laboratorio durante la práctica.
- e. Para el trabajo en el laboratorio, los integrantes del grupo formarán equipos con el número de personas que determine el profesor responsable del mismo.
- f. Todos los alumnos que integran un equipo son responsables de la limpieza de su área de trabajo durante la práctica, así como del material que se les suministre para llevarlas a cabo, y de que ésta se encuentre limpia al terminar la sesión y abandonar el laboratorio.
- g. El material necesario para desarrollar una práctica, deberá ser solicitado en el interlaboratorio, usando un vale impreso expresamente para dicho fin y adjuntando a éste la credencial de la persona que firmó el vale.
- h. Al recibir el material, el usuario debe revisar que esté completo y sin daños.
- i. Todo material y equipo devuelto al interlaboratorio después de su uso, tendrá que estar completo y sin daño alguno.
- j. En el caso de ser material que requiera ser guardado en el interlaboratorio para una observación posterior, éste deberá estar etiquetado con una leyenda que incluya equipo, grupo y fecha.
- k. Si por alguna razón, el material que se entregue al interlaboratorio está deteriorado o incompleto, el usuario deberá hacer un vale adicional por ese material y dejar su credencial hasta que se reponga lo dañado o faltante. Hay como límite dos semanas para reponer dicho material; cumplido ese tiempo, no se les permitirá la entrada a prácticas a los miembros del equipo deudor.
- l. Durante el transcurso de una práctica, el alumno sólo podrá utilizar los aparatos que hay en el laboratorio, si está siendo asesorado por un profesor.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	0	<b>9 /157</b>

m. Cada equipo de trabajo, deberá traer para cada una de las prácticas el material que le indique su profesor:

- Un rollo de masking tape
- Paño lavable para limpieza que no suelte pelusa
- Jabón para su limpieza personal
- Algodón
- Marcador
- Lápiz graso
- Asa bacteriológica
- Papel seda
- Toallas de papel para secarse las manos
- El material adicional que se requiera para cada práctica

- n. Se prohíbe fumar y hacer uso inadecuado del equipo y las instalaciones del laboratorio
- o. Se prohíbe ingerir alimentos o bebidas en el interior del laboratorio
- p. Durante su estancia en el laboratorio, los alumnos deberán apagar su teléfono celular, cualquier otro aparato de comunicación, debido a que en las prácticas se maneja material biológico y existe riesgo de contaminación.
- q. Para cualquier alumno o persona ajena, queda prohibido el paso al interlaboratorio.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	10 /157

### Manejo de RPBI

TIPO DE RESIDUO	ESTADO FISICO	ENVASADO	COLOR	
Sangre	Líquido	Recipientes herméticos	Rojo	
Cultivos y cepas de agentes infecciosos	Sólido	Bolsas de polietileno	Rojo	
Objetos Punzocortantes *	Sólido	Recipientes rígidos de polipropileno	Rojo	
No anatómicos	Sólido	Bolsas de polietileno	Rojo	
		Recipientes herméticos	Rojo	

**\* Excepto material de vidrio de laboratorio roto, el cual se colocará en bolsas de papel gruesas etiquetadas con la siguiente leyenda “CUIDADO, VIDRIO ROTO”**

Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Diario Oficial de la Federación el 17 de febrero de 2003  
Guía para el manejo de los residuos peligrosos biológico infecciosos en unidades de salud. Secretaría de Salud. 2003. [www.salud.gob.mx](http://www.salud.gob.mx)



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	11 / 157

## Práctica No. 1

### FACTORES DE PATOGENICIDAD DE MICROORGANISMOS DE CAVIDAD BUCAL

#### OBJETIVO

Identificar los factores de patogenicidad mediante los cuales las bacterias pueden producir daño en el organismo.

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS

- 1.- Definición de patogenicidad y virulencia
- 2.- Definición de flora normal o microbiota
- 3.- Definición de organismo oportunista

#### FUNDAMENTO TEÓRICO

El conocimiento de los factores de patogenicidad empleados por los microorganismos para provocar daño a las células, tejidos y órganos de nuestro cuerpo es relevante; ya que nos permite tomar medidas de prevención, así como diseñar estrategias de diagnóstico y tratamiento de las enfermedades. La patogenicidad de los microorganismos se refiere a su capacidad para producir enfermedad en hospederos susceptibles, y con base en esta propiedad las bacterias se dividen en dos grupos: patógenas y no patógenas.

La capacidad patogénica de las bacterias, se debe a características intrínsecas de cada especie. Algunas poseen determinados factores de patogenicidad, lo cuales favorecen su capacidad para ingresar al organismo; adherirse, colonizar e invadir los tejidos, así como evadir la respuesta inmunitaria del hospedero, procesos que en conjunto podrían resultar en el desarrollo de una enfermedad.

La capacidad de los agentes patógenos de provocar una enfermedad, no solo depende de los factores de patogenicidad que posean. Es muy importante, considerar los mecanismos de defensa del hospedero. Generalmente, el despliegue de una respuesta inmunitaria eficiente evitará el desarrollo de una patología. De manera contraria, si los mecanismos de defensa de algún individuo no son eficientes, es muy probable que el agente patógeno logre producir una enfermedad.

El cuerpo humano, posee una flora normal o microbiota, formada por un conjunto de microorganismos que viven en equilibrio en diferentes sitios anatómicos. Esta flora está conformada principalmente por bacterias no patógenas y patógenos oportunistas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	12 /157

Generalmente los microorganismos del microbiota no provocan enfermedades, incluso muchos de ellos son necesarios para el correcto funcionamiento del organismo, por ejemplo, los *Lactobacillus* se encuentran en gran cantidad en el intestino y ayudan a la digestión. Por otra parte, los microorganismos oportunistas, son aquellos capaces de provocar enfermedades, cuando hay deficiencia de los mecanismos de defensa o alteraciones en el microambiente que favorecen su crecimiento y proliferación.

Como ya se mencionó los factores de patogenicidad le confieren a la bacteria la capacidad de adherirse, colonizar e invadir los tejidos, así como evitar los mecanismos de defensa del cuerpo humano. Para ello, además de poseer ciertas características en su envoltura bacteriana, también pueden producir toxinas y enzimas. En el siguiente apartado se explican brevemente algunos ejemplos:

#### Factores de patogenicidad que favorecen la adherencia e invasión de los tejidos:

**Fimbrias:** son filamentos especializados que contienen adhesinas en uno de sus extremos, que permiten a la bacteria adherirse a los epitelios o mucosas.

**Proteasa anti IgA:** La cual degrada IgA permitiendo al microorganismo adherirse a las mucosas, es principalmente producida por *Neisseria gonorrhoeae* y *Haemophilus influenzae*.

**Hialuronidasa y Colagenasa:** Exotoxinas que degradan sus respectivos sustratos intercelulares (ácido hialurónico y colágeno), que permiten la diseminación de la bacteria a través del tejido. Las producen principalmente *Streptococcus pyogenes* y *Porphyromona melaninogénica* entre otras.

#### Factores de patogenicidad que favorecen la evasión de los mecanismos de defensa:

**Cápsula:** Es una capa externa a la pared celular constituida de polisacáridos y glicoproteínas, su función principal es proteger de la fagocitosis a las bacterias y evita la fijación del complemento. Su presencia está altamente relacionada con la virulencia de un microorganismo.

**Coagulasa:** Es una enzima producida principalmente por *Staphylococcus aureus*, la cual acelera la producción de un coágulo de fibrina a partir de fibrinógeno, este coágulo protege a la bacteria de la fagocitosis.

**Leucocidinas:** Destruyen leucocitos, neutrófilos y macrófagos facilitando el desplazamiento bacteriano y eliminando a las células inmunitarias.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	13 /157

Otros factores de patogenicidad y virulencia muy importantes son la producción de toxinas, las cuales se clasifican en endotoxinas y exotoxinas:

**Endotoxinas:** Son lipopolisacáridos (LPS) que forman parte de la membrana externa de las bacterias Gram negativas. Desencadenan la respuesta inmunitaria, causando fiebre, hipotensión, vasodilatación e inflamación.

**Exotoxinas:** Son proteínas sintetizadas y secretadas por bacterias Gram positivas y Gram negativas. La toxicidad de estas sustancias es muy elevada y generalmente causa más daño al organismo que la propia bacteria. Son producidas por varios microorganismos entre ellos: *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum* etc. Algunas de las enfermedades causadas por exotoxinas son la difteria, tétanos, gangrena gaseosa, botulismo, ántrax, choque tóxico, fiebre escarlatina, diarrea, cólera, tosferina, etc. Algunos ejemplos de exotoxinas son:

**Hemolisinas:** Son exotoxinas que causan hemólisis (lisis o ruptura de eritrocitos) es producida principalmente por *Streptococos* y *Estafilococos* coagulasa positivos.

**Lecitinasa o fosfolipasa C:** Enzima extracelular producida por ciertas bacterias como *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus aureus* entre otros, su función es hidrolizar los fosfolípidos, principales componentes de la membrana celular.

**Catalasa:** Enzima que rompe la molécula de  $H_2O_2$  convirtiéndola en  $H_2O$  + Oxígeno libre.

**Bacteriocinas:** Son proteínas sintetizadas por una bacteria con el fin de inhibir el crecimiento de bacterias similares o de cepas cercanas. Son producidas por bacterias no patógenas de la flora normal, lo que contribuye al equilibrio de este ecosistema, evitando la aparición de patógenos oportunistas.

En ocasiones la interacción de las exotoxinas producidas por dos especies de bacterias incrementa su capacidad de producir daño en el organismo. Por ejemplo, *Streptococcus agalactiae* al interactuar con *Staphylococcus aureus* produce en agar sangre un efecto conocido como CAMP positivo (del inglés Christie, de Atkins y de Munich-Peterson); en el cual se potencializa la hemólisis. Lo anterior debido a que los *Streptococcus* del grupo B (*S. agalactiae*) secretan el factor CAMP, una proteína termoestable, que difunde e interactúa con la  $\beta$  hemolisina (también conocida como esfingomielinasa C) secretada por *S. aureus*. Dicha interacción provoca un sinergismo de la hemólisis (Punta de flecha).



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	14 / 157

## MATERIAL Y REACTIVOS

### Cepas bacterianas:

*Staphylococcus aureus* productor de beta-toxina.

*Streptococcus pyogenes*

*Streptococcus agalactiae*

### Medios de Cultivo:

2 cajas con agar sangre de carnero al 5%

1 caja con agar yema de huevo

### Material:

Mechero e incubadora

## SERVICIOS

Agua, luz y gas.

## PROCEDIMIENTO

### A) Hemolisinas:

Con un hisopo estéril, tomar una muestra de exudado faríngeo de un compañero y descargar en un extremo de una caja con agar sangre, posteriormente realizar estría cruzada con el asa estéril e incubar por 24 horas a 37°C. Culminado el tiempo de incubación, observar los tipos de hemólisis que se presentan y hacer lectura de la morfología de las colonias cultivadas.

### B) Prueba de CAMP:

En el centro de la caja con agar sangre, realizar una estría recta simple de *Staphylococcus aureus*. Posteriormente, en un extremo de la estría anterior, colocar lo más cerca posible, una estría recta perpendicular con *Streptococcus pyogenes*; y otra al otro extremo con *Streptococcus agalactiae*. Es importante que ninguna estría haga contacto. Incubar a 37°C por 24 horas. Posteriormente, observar la presencia de una zona de hemólisis con forma de punta de flecha, en la unión entre los *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*.

### C) Catalasa:

Colocar una gota de Peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) sobre un portaobjetos perfectamente limpio y desengrasado. Mezclar una muestra de *Staphylococcus aureus* con la gota de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, observar cuidadosamente la presencia o ausencia de burbujas, las cuales serán formadas si hay producción de Oxígeno libre.



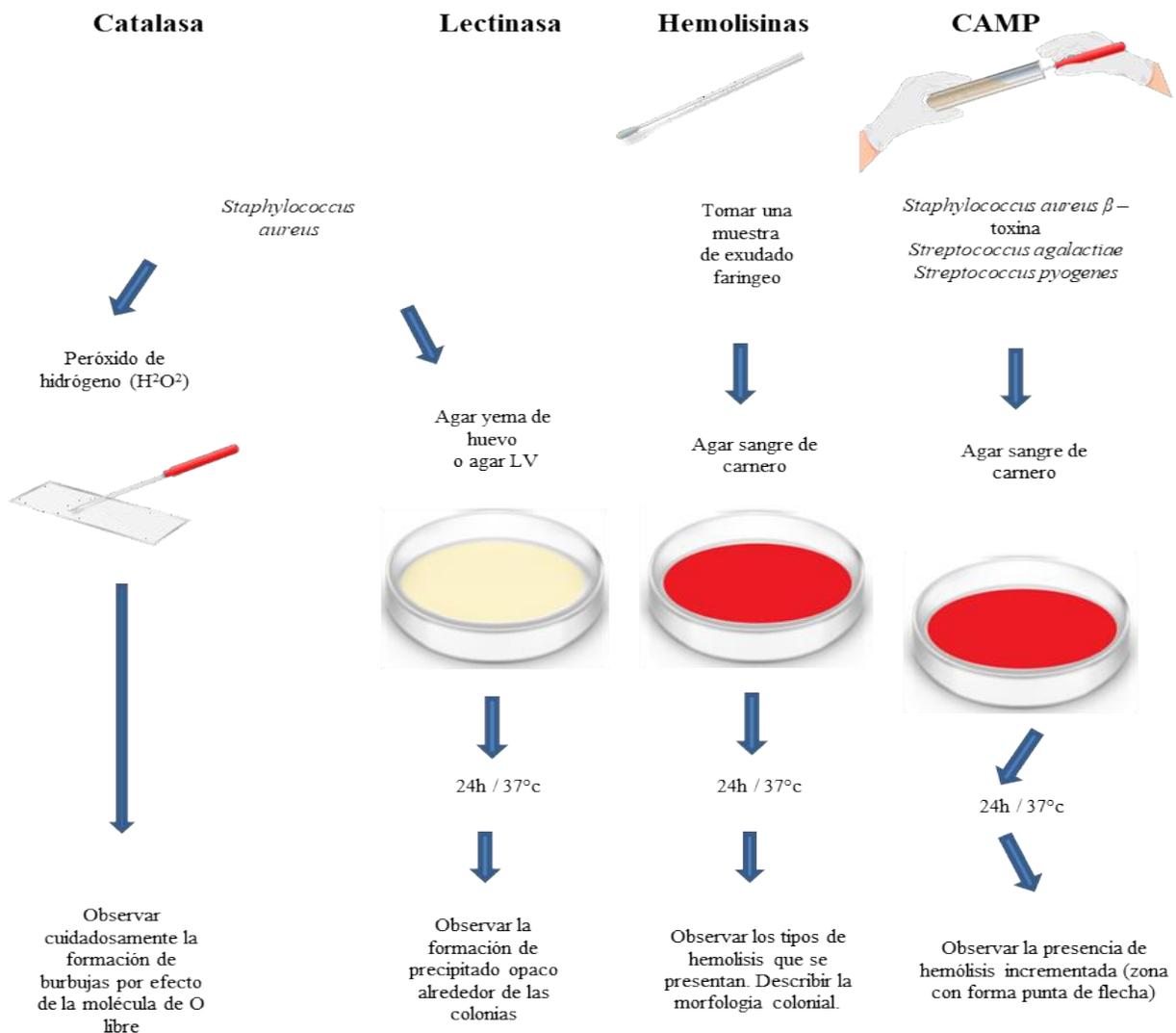
SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	15 /157

D) Lecitinasas:

Inocular por estría cruzada, una muestra de *Staphylococcus aureus* en la caja con agar yema de huevo, incubar a 37°C por 24 horas. Observar la formación de un precipitado opaco alrededor de las colonias.





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	16 /157

## RESULTADOS

Leer morfología de las colonias de bacterias cultivadas, tipo de hemólisis, y presencia o ausencia de cada una de las enzimas y/o toxinas mencionadas anteriormente.

## CUESTIONARIO

- 1.- ¿Cuáles son las principales diferencias entre exotoxinas y endotoxinas?
- 2.- Defina y diferencie los conceptos de patogenicidad y virulencia.
- 3.- Mencione en qué tipo de infecciones de cavidad bucal intervienen los mecanismos de patogenicidad demostrados en esta práctica.
- 4.- Mencione que factores de patogenicidad posee *Staphylococcus aureus*.
- 5.- ¿Qué tipo de hemolisis se observó en la prueba de CAMP?

## BIBLIOGRAFÍA

- Arce MAY. (2009) Inmunología e inmunopatología oral. México: El manual moderno, S.A. de C.V.
- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA.(2011) Microbiología médica. 25a. ed. México: Mc Graw Hill.
- Carrol, K.C ; Stephen.A.M; Mietzner.T; (2016) Microbiología médica 27a ed. México: Mc GrawHill-Interamericana.
- Engleberg NK, Di Rita VJ, Dermody TS. (2013) Mecanismos de las enfermedades microbianas. 5a. ed. Filadelfia.
- González FRM, Molina LJ. ( 2009) Microbiología bucal. 4a. ed. México: Méndez editores.
- Liébana UJ. (2002) Microbiología oral. 2a. ed. España: Mc Graw Hill-Interamericana.
- Male D, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. (2014) Inmunología. 8a. ed. España: Elsevier.
- Marsh PD, Martin MV.(2011) Microbiología oral. 5a. ed. Gran Bretaña: Amolca.
- Negróni M. (2018) Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica. 3a. ed. Argentina: Médica panamericana.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	0	<b>17 /157</b>

Ryan JK, Ray CG. (2017) Microbiología médica de Sherris. 6a. ed. México: Mc Graw Hill-Interamericana editores.

Spicer WJ. (2009) Microbiología clínica y enfermedades infecciosas: texto y atlas en color. España: Elsevier.

Struthers JK, Westran RP.(2005) Bacteriología clínica. Bcelona España: Masson.

Tay ZJ. (2011) Microbiología y parasitología clínica. 4a. ed. México: Méndez editores.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	18 / 157

## Práctica No. 2 IDENTIFICACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS

### OBJETIVO

El alumno diferenciará cepas patógenas y no patógenas de estafilococos mediante características específicas observadas en los medios de cultivo y pruebas bioquímicas.

### CONOCIMIENTOS PREVIOS

Para realizar la práctica, el alumno deberá revisar previamente los siguientes temas:

1. Morfología de *Staphylococcus*.
2. Factores de patogenicidad producidos por *Staphylococcus aureus*.
3. Patologías en que está involucrado este microorganismo.

### FUNDAMENTO TEÓRICO

En la gran mayoría de las infecciones supurativas de cavidad oral se encuentra involucrado el género *Staphylococcus*. Casi todas las personas tendrán algún tipo de infección por *Staphylococcus aureus* durante su vida, cuya intensidad va desde envenenamiento por alimentos o infecciones cutáneas menores a infecciones graves que ponen en peligro la vida.

Los estafilococos son cocos Gram positivos que se pueden encontrar aislados, en pares y se dividen en más de un plano formando racimos irregulares, por lo general son acapsulados, aunque se han descrito formas capsuladas. Son inmóviles, figuran entre los microorganismos no esporulados más resistentes.

Los estafilococos se encuentran frecuentemente en la cavidad bucal. Aunque no en gran cantidad las dos especies de particular interés son *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. Ambos son aerobios y anaerobios facultativos relativamente resistentes al calor y hasta cierto grado a desinfectantes. El *Staphylococcus aureus* es coagulasa, catalasa y manitol positivos y transforman los teluritos en telurios. Crecen en presencia de cloruro de sodio al 10%, son halófilicos.

Se considera que los estafilococos son causa de ciertas infecciones de la cavidad bucal y de las piezas dentales y compiten con los estreptococos como el agente más frecuente las infecciones bacterianas de la cavidad bucal. Los conductos radiculares infectados y abscesos dentales, frecuentemente muestran al cultivo la presencia de *Staphylococcus aureus*.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	19 / 157

*Staphylococcus aureus* causa una gran variedad de enfermedades en el humano, los tres grupos más importantes son: las infecciones de la piel, de los órganos y de los tejidos profundos y las toxinosis. La toxinosis es la formación de toxinas que corresponde al microorganismo.

Entre las primeras destacan por su frecuencia la foliculitis, la celulitis, el impétigo; en el segundo grupo se incluyen enfermedades de mayor gravedad como las bacteriemias, endocarditis, meningitis, osteomielitis, neumonías, mastitis, abscesos diversos, las infecciones de heridas postquirúrgicas, artritis séptica, enterocolitis y las infecciones genitourinarias, adquiridas tanto en ambiente comunitario como intrahospitalario. En el grupo de intoxicaciones están: la intoxicación alimentaria, necrosis epidérmica tóxica, síndrome de piel escaldada y el síndrome de choque tóxico. Se han encontrado en infecciones endodónticas y en algunos abscesos periapicales.

Otra de sus características es que presentan resistencia a los antibióticos eficaces para bacterias Gram positivas, incluyendo penicilina y los de amplio espectro. Pueden producir enfermedad tanto por su capacidad para multiplicarse y extenderse con amplitud por los tejidos como por su producción de sustancias extracelulares. Algunas de estas sustancias son enzimas, otras se consideran toxinas, aunque pueden funcionar como las anteriores.

### CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DE LOS ESTAFILOCOCOS

CARACTERÍSTICAS	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Pigmento de colonias en agar S-110	Amarillo	Blanco
Agar Sal y Manitol	+	-
Agar Vogel Jonhson	Negro	Blanco
Coagulasa	+	-
Hemolisinas	+	-
Lipasa	-	-
Catalasa	+	+

#### Fermentación de azúcares

Fermentación de manitol	+	-
Fermentación de sacarosa	+	+
Fermentación de glucosa en aerobiosis	+	-
Licuefacción de gelatina	-	-



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	20 /157

### PRODUCCIÓN DE ENZIMAS:

#### A) Coagulasa

*Staphylococcus aureus* produce esta enzima, puede incidir en un mecanismo alternativo, ya sea como una enzima o un activador de un compuesto plasmático para convertir el fibrinógeno en fibrina, lo cual sugiere que la coagulasa es una sustancia similar a la protrombina.

#### B) Catalasa

Los *Staphylococcus* producen catalasa que convierte al peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. La prueba de la catalasa diferencia a los estafilococos que son positivos, de los estreptococos, que son negativos.

#### C) Fosfatasa

*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* producen esta enzima que rompe la fenoltaleína difosfato produciendo un cambio de color debido a la fenoltaleína liberada que reacciona con un álcali para dar un color rosa brillante.

#### D) Beta -Lactamasas

*Staphylococcus aureus* produce estas enzimas que hidrolizan al anillo beta lactámico de la penicilina (penicilinasas) o cefalosporina (cefalosporinasas) aunque son parcialmente activas contra ambos grupos.

#### E) DNAsas

*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* las producen, la actividad de la desoxirribonucleasa se correlaciona bien con la actividad de coagulasa. Se producen zonas claras alrededor de las cepas y se coloca azul de toluidina 0.1% se produce un color rosa alrededor del crecimiento de las cepas.

#### F) Hemolisinas

*Staphylococcus aureus* produce hemolisinas alfa, beta, gama y delta, siendo la hemolisina beta de mayor importancia por su patogenicidad. La hemolisina beta es un



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	21 /157

fosfolipasa que presenta propiedades hemolíticas sobre los eritrocitos, produciendo hemólisis beta la cual se observa por un halo transparente alrededor de la colonia.

*Staphylococcus aureus* en agar sangre produce beta hemolisis alrededor de la colonia.

*Staphylococcus epidermidis* en agar sangre no produce hemolisis.

#### G) Toxina exfoliativa

Esta toxina de *Staphylococcus aureus* está constituida por lo menos por dos proteínas que producen la descamación generalizada del síndrome estafilocócico de piel escaldada. Hay anticuerpos específicos que protegen al sujeto contra la acción exfoliativa de la toxina.

H) Hialuronidasa o factor de difusión: Degrada el ácido hialurónico de la matriz del tejido conjuntivo facilitando la diseminación de la infección.

En agar Vogel Johnson, el crecimiento de los gérmenes es inhibido casi totalmente por el telurito. El manitol sirve como sustancia reaccionante para la diferenciación, pues es degradada a ácido por la mayoría de los *Staphylococcus* patógenos. Los *Staphylococcus* patógenos reducen además el telurito de potasio a telurio metálico y en consecuencia producen colonias de color negro.

La formación de ácido se comprueba por el viraje a amarillo que sufre el manitol con rojo de fenol.

### MATERIAL Y REACTIVOS

**CEPAS:** *Staphylococcus aureus*  
*Staphylococcus epidermidis*

**MEDIOS:** 1 caja agar sal y manitol  
1 caja agar S-110  
1 caja agar sangre de carnero  
1 caja Vogel Johnson

**TUBOS:** 2 Caldo: Glucosa con rojo fenol  
2 Caldo: Manitol con rojo fenol  
2 Plasma citratado

### MATERIAL Y EQUIPO:

- Hisopo
- Portaobjetos
- Mechero
- Incubadora



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	22 / 157

**REACTIVOS:** Peróxido de Hidrógeno

**SERVICIOS:** Agua, luz, gas.

## PROCEDIMIENTO

### A) FERMENTACIÓN DE MANITOL

Sembrar una caja de agar sal y manitol la mitad con *Staphylococcus aureus* y la otra mitad con *Staphylococcus epidermidis* por estría cruzada. Incubar a 37°C de 24 a 48 horas.

### B) PRODUCCIÓN DE HEMOLISINAS

Sembrar en agar sangre la mitad con *Staphylococcus aureus* y la otra mitad con *Staphylococcus epidermidis* por estría cruzada. Incubar a 37°C de 24 a 48 horas.

### C) PRODUCCIÓN DE COAGULASA

En un tubo con plasma citratado, inocular una asada por suspensión de una cepa de *Staphylococcus aureus* y en otro tubo con *Staphylococcus epidermidis*. Incubar durante 1 a 3 horas a 37° C.

### D) PRODUCCIÓN DE CATALASA

Tornar una asada de la cepa de *Staphylococcus aureus* y suspender sobre un portaobjeto, adicionarle 1 o 2 gotas de peróxido de hidrógeno. Realizar lo mismo con *Staphylococcus epidermidis*.

### E) MEDIOS DE CULTIVO DIFERENCIAL Y SELECTIVO

#### **Agar: Vogel Johnson**

Sembrar una caja con agar Vogel Johnson la mitad con *Staphylococcus aureus* y la otra mitad con *Staphylococcus epidermidis* por estría cruzada. Incubar a 37°C de 24 a 48 horas.

#### **Agar: S-110**

Sembrar una caja con agar S-110 la mitad con *Staphylococcus aureus* y la otra mitad con *Staphylococcus epidermidis* por estría cruzada. Incubar a 37°C de 24 a 48 horas.

### F) PRUEBAS BIOQUÍMICAS

-En un tubo de glucosa con rojo de fenol inocular una asada por agitación de una cepa de *Staphylococcus aureus* y en otro tubo con *Staphylococcus epidermidis*.

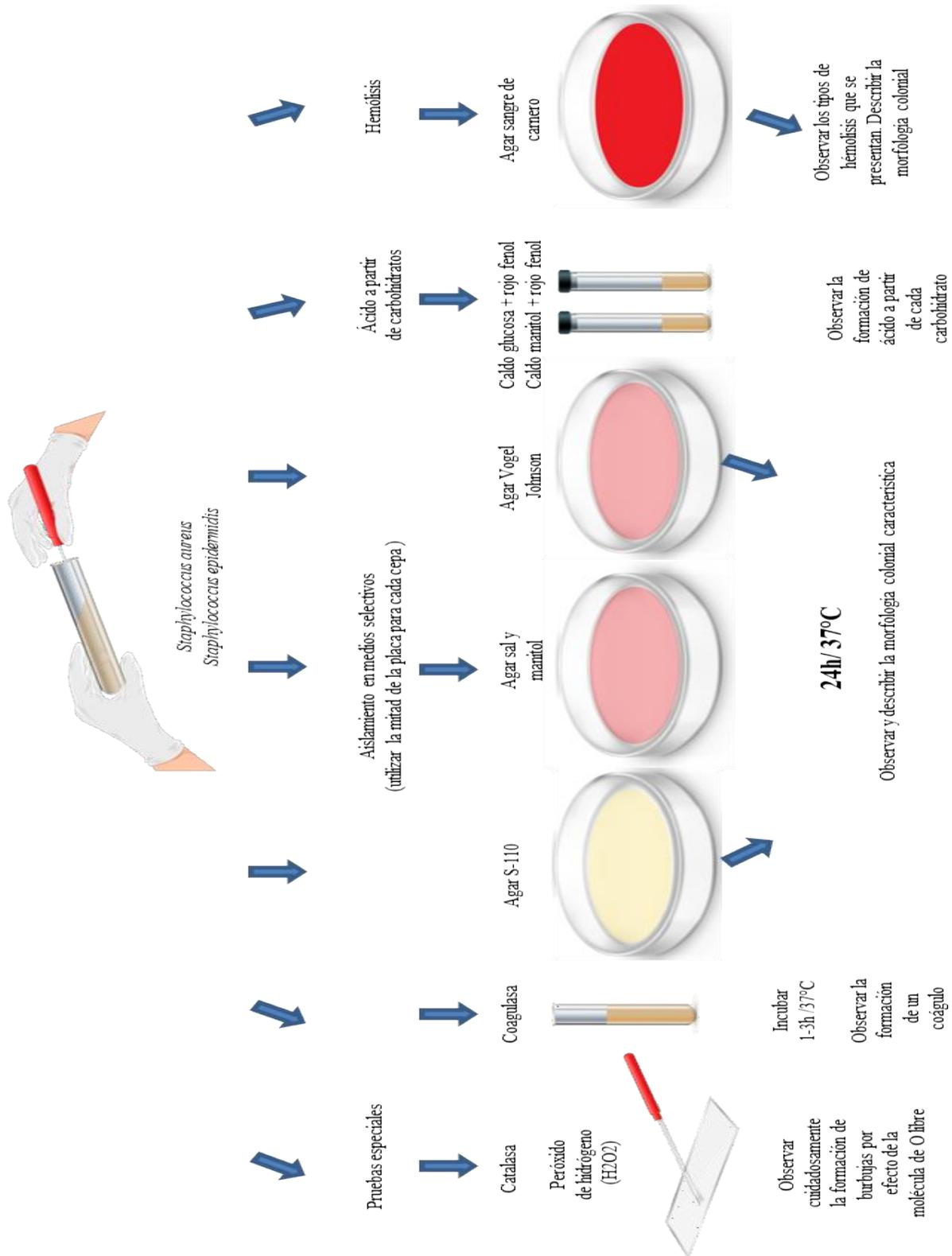
-En un tubo de manitol con rojo de fenol inocular una asada por agitación de una cepa de *Staphylococcus aureus* y en otro tubo con *Staphylococcus epidermidis*.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	23 /157





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	24 / 157

## RESULTADOS

- De cada una de las cajas de agar sembradas reportar morfología colonial.
- En la caja de agar sal y manitol observar cambio de coloración del medio por efecto de la fermentación del manitol.
- Caja agar Vogel Johnson *Staphylococcus aureus* producen colonias pequeñas negras, con halo amarillo *Staphylococcus epidermidis* colonias pequeñas, negro-grisáceas, sin halo.
- Caja de agar S 110 *Staphylococcus aureus*; Las colonias son lisas, redondas de bordes enteros, cremosas de color blanco porcelana o amarillo. *Staphylococcus epidermidis*; las colonias son lisas, de forma circular con bordes enteros ligeramente irregulares de color blanco.
- Caja de agar sangre; Observar los tipos de Hemolisis.
- En la prueba de coagulasa; observar la formación del coagulo.
  
- En la prueba de catalasa; esperar ver la formación inmediata de burbujas y reportar la prueba como (+), si no hay burbujeo se reporta (-).
- En las Pruebas Bioquímicas reportar cambio de coloración de rojo a amarillo como (+).

## CUESTIONARIO

- 1.- Mencione la etiopatogenia de la celulitis y de la osteomielitis
- 2- Mencione la importancia que tiene la contaminación de alimentos por *Staphylococcus aureus*.
- 3.- Explique cómo actúa la coagulasa producida por *Staphylococcus aureus* y su importancia en la patogenia.
- 4.- Mencione los factores de patogenicidad que produce el *Staphylococcus aureus* en el absceso periapical.
- 5.-Describa la conducta a seguir en un paciente que presente un absceso periapical



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	25 /157

## BIBLIOGRAFÍA

- Arce MAY. (2009) Inmunología e inmunopatología oral. México: El manual moderno, S.A. de C.V.
- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA Mietzner TA. (2011) Microbiología médica. 25a. ed. México: Mc Graw Hill.
- Carroll, K.C ; Stephen.A.M; Mietzner.T; (2016) Microbiología médica 27a ed. México: McGraw Hill-Interamericana.
- Engleberg NK, Di Rita VJ, Dermody TS. (2013) Mecanismos de las enfermedades microbianas. 5a. ed. Filadelfia.
- González FRM, Molina LJ.(2009) Microbiología bucal. 4a. ed. México: Méndez editores.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E: (2011) microbiología médica. 25a. ed. México: McGraw Hill interamericana.
- Liébana UJ. (2002) Microbiología oral. 2a. ed. España: Mc Graw Hill-Interamericana.
- Male D, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. (2014) Inmunología. 8a. ed. España: Elsevier.
- Marsh PD, Martin MV. (2011) Microbiología oral. 5a. ed. Gran Bretaña: Amolca.
- Negrón M. (2018) Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica. 3a. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Nolte, WA.:(1986) Microbiología Odontológica. 3a. ed. México: Interamericana.
- Prats G. (2017) Microbiología clínica. Madrid: Médica Panamericana.
- Ryan JK, Ray CG. (2017) Microbiología médica de Sherris. 6a. ed. México: Mc Graw Hill-Interamericana editores.
- Spicer WJ. (2009) Microbiología clínica y enfermedades infecciosas: texto y atlas en color. España: Elsevier.
- Struthers JK, Westran RP. (2005) Bacteriología clínica. Barcelona España: Masson.
- Tay. Z.J ; Gutierrez. M; López. R; Molina. J ;Manjarrez. M.E: (2012) Microbiología y parasitología clínica. 4a ed. Méndez.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	26 /157

### Práctica No. 3

## MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA EN CARIES DENTAL

### OBJETIVO

Identificar las características metabólicas, fisiológicas y morfológicas de algunos microorganismos involucrados en el desarrollo de caries dental.

### CONOCIMIENTOS PREVIOS

1. Definición de caries dental.
2. Relación ecológica existente entre *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans* en el proceso de caries dental.
3. Importancia de *Streptococcus mutans* en la formación de placa dentobacteriana.

### FUNDAMENTO TEÓRICO

La caries dental es una enfermedad multifactorial en la cual intervienen factores intrínsecos y extrínsecos para su desarrollo; el aspecto microbiológico como factor extrínseco, es uno de los principales productores de caries.

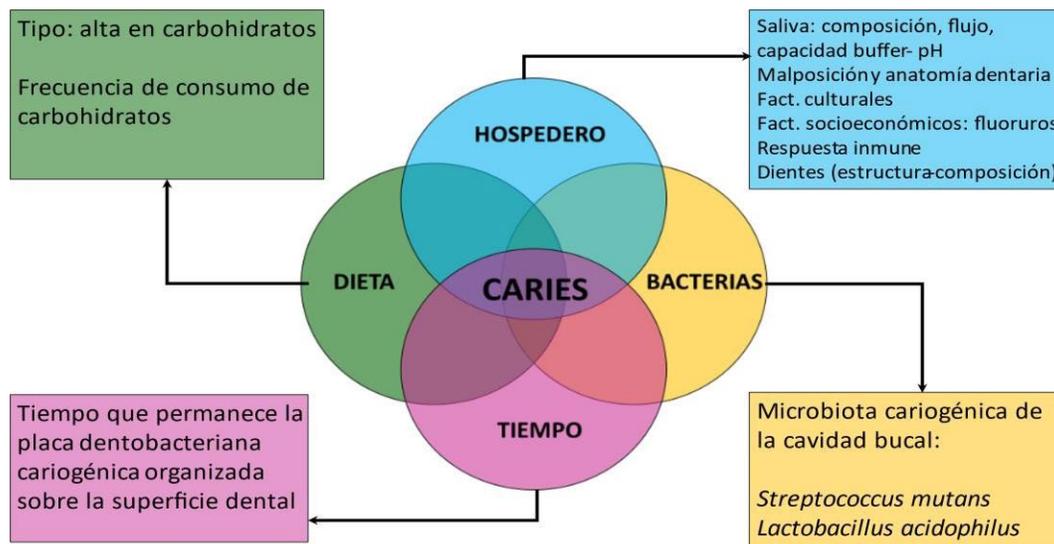
El conocimiento profundo de los microorganismos involucrados en el desarrollo de caries dental es de suma importancia para el Cirujano Dentista, ya que se enfrentará diariamente a esta patología durante su práctica profesional. Teniendo como base dicho conocimiento, podrá aplicar medidas preventivas contra esta enfermedad bacteriana, considerada actualmente por la Organización Mundial de Salud (OMS) como la enfermedad de mayor prevalencia.

La cariología moderna considera que en el desarrollo de caries dental intervienen elementos adicionales relativos al hospedero, entre los que están:

1. Factores socioeconómicos	2. Hábitos higiénico-dietéticos	3. Anatomía dental
4. Factores culturales	5. Saliva	6. Tiempo
7. Respuesta inmune	8. Microorganismos cariogénicos	

Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	27 / 157

**Figura1: Factores asociados al desarrollo de caries dental**



Todos los factores interactúan durante el desarrollo de la caries dental. Imagen tomada y modificada de: Esquema Tetrafactorial de Newbrun, 1978.

Como sabemos, después del cepillado dental en un lapso no mayor a 2 horas se forma la película adquirida, la cual se encuentra libre de bacterias de forma inicial; posteriormente se lleva a cabo la colonización bacteriana de las superficies dentales en dos momentos:

1. Colonización primaria (adherencia bacteriana a la película adquirida).
2. Colonización secundaria (agregación interbacteriana y multiplicación).

La **colonización primaria** se inicia una vez establecida la película adquirida en la cual comienzan a depositarse las primeras poblaciones bacterianas en forma específica.

En esta etapa, las bacterias colonizadoras son estreptococos del grupo viridans como *Streptococcus mutans* y/o *Streptococcus sanguis*, esto dependerá de la presencia de sacarosa. Cabe mencionar que se ha reportado la existencia de placa dentobacteriana no cariogénica, es decir, sin presencia de *Streptococcus mutans*.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	28 /157

La **colonización secundaria** se divide en dos fases:

- a) *Agregación interbacteriana*: El desarrollo de la población bacteriana es un proceso progresivo durante el cual la placa aumenta de grosor y complejidad (placa en transformación).

En esta etapa el mecanismo de adherencia y adición bacteriana depende exclusivamente de la síntesis extracelular de polímeros a partir del desdoblamiento de la sacarosa; *Streptococcus mutans* produce en presencia de este carbohidrato, polímeros adherentes llamados dextranas, levanas y mutanos que permiten la colonización de otros microorganismos, dando paso a la siguiente fase.

- b) Multiplicación: al principio la población bacteriana está constituida por cocos Gram positivos, transformándose rápidamente en una placa compleja que incluye otros cocos, bacilos y filamentos. Por otra parte, los microambientes ácidos creados por los colonizadores primarios facilitan el desarrollo de especies diferentes tales como Veillonela y lactobacillus, que prefieren un medio ácido para su desarrollo.

Dentro del proceso de caries dental, participa de forma importante el género **Streptococcus** del grupo **viridans**; estos son descritos como cocos Gram positivos, de forma esférica u oval, que se agrupan en pares o cadenas, inmóviles, no esporulados, catalasa negativos, aerobios y anaerobios facultativos con crecimiento óptimo a 37° C; al fermentar azúcares producen ácido láctico y fórmico, etanol y bióxido de carbono.

Estas bacterias son consideradas parte de la microbiota bucal. y al ser cultivadas en su medio selectivo **agar mitis salivarius**, presentan colonias altas, convexas, puntiformes, celestes, mucoides, opacas, que miden 0.5 a 1 mm de diámetro y tienen aspecto de vidrio esmerilado. Las especies del grupo viridans son:

- *Streptococcus mutans*: Está relacionado con el inicio de la placa dentobacteriana y su presencia en ella implica cariogenicidad, fue descrito por primera vez por Clarke en 1924.
- *Streptococcus sanguis*: *En un papel antagónico, S. sanguis inhibe la presencia de S. mutans debido a la producción de peróxido de hidrógeno, por lo cual se ha asociado con sitios libres de caries.*
- *Streptococcus salivarius*: *se encuentra en pocas cantidades en la placa dentobacteriana y en caries profundas.*
- *Streptococcus mitis*: *Se encuentra en la placa dentobacteriana, pero se asocia a sujetos libres de caries debido también a la producción de peróxido de hidrógeno. Sin embargo, es la bacteria más frecuentemente asociada a endocarditis bacteriana.*



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	29 /157

Otro microorganismo involucrado en el proceso de caries dental es ***Lactobacillus acidophylus***; este, es considerado un colonizador secundario de la placa dentobacteriana. Son bacilos Gram positivos, microaerófilos o anaerobios, acidogénicos, acidúricos, generalmente inmóviles, con requerimientos nutricionales complejos. Algunas especies como *L. acidophylus* y *L. casei*, producen ácido láctico como producto final de su metabolismo (homofermentativos) y otras como *L. fermentum* y *L. brevis*, producen diferentes ácidos orgánicos y gas (heterofermentativos). Su medio de cultivo selectivo es **agar rogosa**. Estas bacterias se han aislado de caries activas y profundas, ya que tienen acción sinérgica con *S. mutans* en el avance de caries en dentina.

Otras bacterias como *Neisseria*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium* y *Propionibacterium* tienen poco potencial acidógeno y acidotolerante por lo que tienen un bajo potencial cariogénico.

Los ***Actinomyces*** son muy comunes en la placa supragingival humana, en caries radicular y en enfermedad periodontal. Estos son bacilos Gram positivos, rectos o curvos ocasionalmente ramificados, pleomórficos, anaerobios, microaerofílicos o facultativos, que forman micro colonias de 24 a 48 horas de cultivo y crecen en un medio enriquecido como **agar sangre**.

Dentro de este grupo se encuentran *A. viscosus*, *A. israelii*, *A. bovis*, *A. naeslundii*, *Arachnia propionica* y *Rothia dentocariosa*.

### ***Pruebas bioquímicas o de metabolismo microbiano***

Sirven para identificar plenamente la especie de un microorganismo, es la única forma para asegurar qué microorganismo estamos cultivando. Por ejemplo: si sembramos en un medio selectivo para *Staphylococcus*, podemos asegurar que lo que crecerá serán microorganismos de este género, pero no podremos decir la especie hasta no realizar las pruebas bioquímicas. Estas pruebas son muy variadas, generalmente se basan en la capacidad de cada especie microbiana para fermentar azúcares, formar gas, producir ácidos, etc. Teniendo estos resultados, se debe acudir a tablas que se encuentran en la gran mayoría de los libros de microbiología. En este caso se anexan a esta práctica las tablas necesarias para identificar los microorganismos que cultivaremos.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	30 /157

## MATERIAL Y REACTIVOS

### Medios de cultivo:

- 1 caja de agar mitis salivarius (SMS).
- 1 caja de agar rogosa.
- 1 caja de agar sangre de carnero al 5% (AS).
- 1 tubo caldo tioglicolato + suero de conejo al 1% + diente con caries con 72 horas de incubación a 37°C.

### Pruebas bioquímicas:

#### *Streptococcus*

- 1 tubo caldo manitol con rojo de fenol
- 1 tubo caldo sorbitol con rojo de fenol
- 1 tubo caldo nitrato

#### *Lactobacillus*

- 1 tubo caldo nitrato
- 1 tubo caldo salicina con rojo de fenol
- 1 tubo caldo sorbitol con rojo de fenol

### Catalasa:

- 1 frasco con peróxido de hidrógeno
- 1 portaobjetos

**Tinción de Gram:** cristal violeta, lugol, alcohol-acetona y safranina

### Material y Equipo:

- Hisopo
- Mechero
- Incubadora

## SERVICIOS

Agua, luz y gas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	31 /157

## PROCEDIMIENTO

Esta práctica se realiza en dos sesiones:

### Primera sesión

#### **A) *Streptococcus***

- Tomar con un hisopo estéril una muestra de caldo tioglicolato + suero de conejo al 1% + diente con caries con 72 horas de incubación a 37°C y realizar en un extremo de la caja de agar mitis salivarius la descarga, posteriormente, realizar con el asa estéril la estría cruzada. Etiquetar la caja e incubar a 37° C por 24 horas.

#### **B) *Lactobacillus***

- Tomar con un hisopo estéril una muestra del caldo tioglicolato + suero de conejo al 1% + diente con caries, con 72 horas de incubación a 37°C y realizar en un extremo de la caja de agar rogosa la descarga, posteriormente, realizar con el asa estéril la estría cruzada. Etiquetar la caja e incubar a 37° C por 24 horas en atmosfera parcial de anaerobiosis.

#### **C) *Actinomyces***

- Tomar con un hisopo estéril una muestra del caldo tioglicolato + suero de conejo al 1% + diente con caries, con 72 horas de incubación a 37°C y realizar en un extremo de la caja de agar sangre la descarga, posteriormente, realizar con el asa estéril la estría cruzada. Etiquetar la caja e incubar a 37° C por 24 horas en atmósfera parcial de anaerobiosis.

### Segunda sesión

#### A) De la caja de agar rogosa

- ✓ Tomar una colonia y sembrar el tubo caldo nitrato por agitación.
  - ✓ Tomar una colonia y sembrar el tubo caldo salicina con rojo de fenol por agitación.
  - ✓ Tomar una colonia y sembrar el tubo caldo sorbitol con rojo de fenol por agitación.
- Etiquetar los 3 tubos e incubar a 37°C por 24 horas.

#### B) De la caja de agar mitis salivarius

- ✓ Tomar una colonia y sembrar el tubo caldo manitol con rojo de fenol por agitación.
  - ✓ Tomar una colonia y sembrar el tubo caldo sorbitol con rojo de fenol por agitación.
  - ✓ Tomar una colonia y sembrar el tubo con caldo nitrato por agitación
- Etiquetar los 3 tubos e incubar a 37°C por 24 horas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	32 /157

C) Realizar la prueba de catalasa y la tinción de Gram de una colonia característica de cada una de las tres cajas sembradas en la primera parte de esta práctica.

**Primera sesión**

Caldo tioglicolato + Suero de conejo al 1% +  
diente con caries incubado por 72h. a 37°C.



Tomar una muestra con el  
hisopo estéril y descargar  
en las cajas de agar

Aislamiento

Agar mitis salivarius

Agar rogosa

Agar sangre de carnero

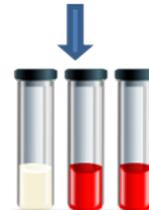
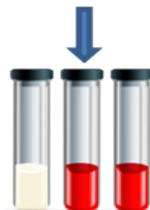


24h / 37°C

24h / 37°C anaerobiosis parcial

**Segunda Sesión**

Pruebas  
bioquímicas



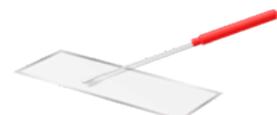
Caldo nitrato

Caldo nitrato

Caldo manitol + rojo  
fenol  
Caldo sorbitol + rojo  
fenol

Caldo salicina + rojo  
fenol  
Caldo sorbitol + rojo  
fenol

Catalasa  
y tinción de  
gram





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	33 /157

## RESULTADOS DE LA PRIMERA Y SEGUNDA SESIÓN

**Nota: Esta es una práctica en dos sesiones, pero se entregará un solo reporte de prácticas.**

### - *Streptococcus*:

Describir la morfología de una colonia aislada en la placa de agar mitis salivarius, reportar los resultados correspondientes a la prueba de catalasa, tinción de Gram y de las pruebas bioquímicas, mencionando con base en los resultados el género y especie de la bacteria cultivada (auxiliarse de la tabla 1).

Para la correcta lectura de la prueba de caldo nitrato agregar 2 gotas de cada componente del reactivo de Griess (1 gota de Ácido Sulfanílico y 1 gota de Alfa Naftil Amina) y observar una coloración rosa, que significa una prueba positiva.

### - *Lactobacillus*:

Describir la morfología de una colonia aislada en la placa de agar rogosa, reportar los resultados correspondientes a la prueba de catalasa, tinción de Gram y de las pruebas bioquímicas mencionando con base en estos resultados el género y especie de la bacteria cultivada (auxiliarse de la tabla 2).

Para la correcta lectura de la prueba de caldo nitrato agregar 2 gotas de cada componente del reactivo de Griess (1 gota de Ácido Sulfanílico y 1 gota de Alfa Naftil Amina) y observar una coloración rosa, que significa una prueba positiva.

### - *Actinomyces*:

Describir la morfología de una colonia aislada en la placa de agar sangre, reportar los resultados correspondientes a la prueba de catalasa y tinción de Gram de las colonias desarrolladas en este medio.

### Material de apoyo:

**Tabla 1:** Diferenciación de algunos estreptococos del grupo viridans

**Tabla 2:** Diferenciación de lactobacilos



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	34 /157

## CUESTIONARIO

- 1.- Explique la patogenia de la caries dental.
- 2.- ¿Cuál es la importancia de los microorganismos anaerobios en la producción de caries dental?
- 3.- Explique ¿por qué se agrega sacarosa al agar mitis salivarius?
- 4.- ¿Por qué es selectivo el agar rosgosa para los lactobacilos?
- 5.- Defina caries dental dando un enfoque multidisciplinario.

## BIBLIOGRAFÍA

- Brooks G.F., Carroll K.C., Butel J.S., Morse S.A., Mietzner T.A.. (2011). *Microbiología médica* (25a. ed.) México: Mc Graw Hill.
- Carroll K.C., Morse S.A., Mietzner, T.A., Miller, S. (2016). *Microbiología médica* (27a ed.) México: Mc Graw Hill.
- Levinson W., & Jawetz E. (2006). *Microbiología e inmunología médicas: evaluación, repaso* (8ª ed.) México: Manual Moderno.
- Liébana U.J. (2002). *Microbiología oral* (2a. ed.) España: Mc Graw Hill-Interamericana.
- Negróni M. (2018). *Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica* (3ª ed.) Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Ruiz A., & Moreno G. (2006). *Tratado SEIMC de enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. España: Médica panamericana.



**SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
 LABORATORIOS DE DOCENCIA  
 MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
 MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
 SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO**



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	<b>0</b>	<b>35 /157</b>

**Tabla 1. Diferenciación de algunos *Streptococcus* del grupo *viridans***

Especie	<i>S. mutans</i>		<i>S. rattus</i>		<i>S. sobrinus</i>		<i>S. crisetus</i>	<i>S. ferus</i>
Serovar	E	F	B	D	G	H	A	C
Determinante antigénico (serovar)	glucosa (β) (1-4)	glucosa (α) (1-4)	galactosa	galactosa (β) (1-6)	galactosa	N D	glucosa (β) (1-6)	ND
Carbohidrato de pared celular	glucosa / ramnosa		galactosa / ramnosa		glucosa / lactosa / ramnosa		glucosa / lactosa / ramnosa	glucosa / ramnosa

**Fermentación**

Manitol	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+/-	+/-	-	+	+
Rafinosa	+	+	+	-	-	-	+	-
Melobiosa	+/-	+	+	-	-	-	+	ND
NH <sub>3</sub> a partir de arginina	-	-	+	-	-	-	-	-
Crecimiento en bacitracina	+	-	+	-	+	-	-	-



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	36 /157

**Tabla 2. Diferenciación de lactobacilos**

Especie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Crecimiento a 15º C	-	-	-	-	+	+	+	D	-	-
Crecimiento a 45º C	+	+	+	+	d	-	-	-	+	-
Gas de glucosa	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-

**Producción de ácido a partir de  
carbohidratos**

Arabinosa	-	-	-	-	-	d	-	-	D	-
Galactosa	+	D	-	+	+	+	w	-	+	-
Lactosa	+	-	d	+	d	+	d	D	+	+
Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Manitol	-	-	-	+	+	+	d	-	-	D
Molecitososa	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Salicina	+	+	+	d	+	+	-	D	-	-
Sorbitol	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-
Trehalosa	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Reducción de nitratos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1.- *Lactobacillus acidophilus*  
2.- *Lactobacillus jensenii*  
3.- *Lactobacillus leichmannii*  
4.- *Lactobacillus salivarius*  
5.- *Lactobacillus casei*

6.- *Lactobacillus plantarum*  
7.- *Lactobacillus brevis*  
8.- *Lactobacillus celobiosus*  
9.- *Lactobacillus fermenti*  
10.- *Lactobacillus odontolyticus*

+ = 85 a 100% de las cepas son positivas  
- = 15 % de las cepas son positivas  
d = 16 a 84 % de las cepas son positivas  
w = reacción débil  
l = reacción tardí



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	37 /157

## Práctica No. 4

### PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD A CARIES DENTAL

#### OBJETIVO

Conocer algunas de las pruebas de laboratorio utilizadas para determinar la susceptibilidad de desarrollar caries.

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS:

- 1.- Describir a los agentes causales microbianos de la caries dental.
- 2.- Relacionar la placa dentomicrobiana (biofilm) y la caries dental.
- 3.- Describir las características metabólicas de los microorganismos cariogénicos

#### FUNDAMENTO TEÓRICO

Las pruebas de susceptibilidad de caries se han empleado durante muchos años en la investigación odontológica y algunas se han adaptado para el uso rutinario en el consultorio dental. Estas pruebas son útiles para el diagnóstico y pronóstico de la susceptibilidad de desarrollo de caries del individuo, son capaces de predecir la formación de caries con 3 a 6 meses de anticipación y se basan en la teoría acidogénica de la caries, es decir, en la presencia, número y acción de los microorganismos que metabolizan carbohidratos.

Actualmente en la práctica clínica es posible identificar la presencia de *Streptococcus mutans* y de *Lactobacillus* en saliva mediante métodos comerciales o de laboratorio sencillos como: Dentocult LB (*Lactobacillus*), Dentocult SM (*Streptococcus*), prueba de Snyder, prueba de fermentación de manitol, determinación de fluido salival y determinación de capacidad amortiguadora salival.

Las primeras dos pruebas; Dentocult SM, selectiva para *Streptococcus mutans* y la Dentocult LB para *Lactobacillus* se basan en la densidad de crecimiento en la tira por UFC/ml (unidades formadoras de colonias por mililitro) de saliva. Las cuales al paciente se cataloga con bajo, medio y alto recuento de bacterias y por lo tanto un alto, medio o bajo o nulo riesgo de padecer caries dental.

La prueba de Snyder y Fermentación de manitol determina la capacidad de los microorganismos de fermentar carbohidratos y producir ácido.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	38 /157

### PRUEBA DE MANITOL

Es una prueba diseñada para detectar *Streptococcus mutans* por su capacidad de fermentar manitol, ya que es el único *Streptococcus* Gram positivo de la cavidad bucal que fermenta este carbohidrato acidificando el medio; se utiliza el colorante púrpura de bromocresol que en pH neutro es de color morado, y cambia a color amarillo en 24 horas cuando se acidifica. Esta prueba es solo cualitativa, es decir solo evidencia la presencia de *Streptococcus mutans* pero no indica el número de bacterias presentes.

### PRUEBA DE SNYDER

Se utiliza para determinar la capacidad de los microorganismos de la saliva para producir ácidos, contiene glucosa y un indicador de pH llamado verde de bromocresol, el cual vira de verde (neutro) hacia amarillo (ácido) al ser fermentado el carbohidrato. Esta prueba es cualitativa ya que indica el riesgo a caries por la velocidad de cambio de color o acidificación del medio, con una lectura de 24, 48 y 72 horas.

Todas estas pruebas microbiológicas auxilian en la prevención de caries dental y están apoyadas básicamente en la capacidad de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* de fermentar carbohidratos produciendo ácidos los cuales inician la desmineralización del esmalte dental.

### MATERIAL Y REACTIVOS

2 tubos con medio Snyder  
2 tubos con caldo Manitol con púrpura de bromocresol  
2 tubos de ensaye estériles  
2 pipetas estériles de 1 ml  
1 gradilla  
1 mechero  
Baño María

### EQUIPO

Incubadora.

**SERVICIOS:** Agua, luz, gas



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	39 /157

## PROCEDIMIENTO

- Colectar dos muestras de saliva de diferentes donadores en cada uno de los tubos estériles, etiquetando los tubos de cada donador, siempre cerca del mechero y levantar índice CPO a cada uno de los donadores de saliva.

### Medio Snyder:

- Colocar los tubos con medio Snyder en baño maría hasta que estos se licúen, dejarlos enfriar hasta una temperatura aproximada de 45° C.
- Tomar 0.5 ml de saliva y colocarla en el tubo con medio Snyder.
- Agitar inmediatamente hasta que la saliva y el medio queden perfectamente mezclados.
- Incubar a 37° C por 24,48 y 72 horas (hasta que cambie de verde a amarillo, pero no más de 72 horas).
- Leer resultados a las 24, 48 y 72 horas.

### Caldo Manitol

- Tomar 0.5 ml de saliva y colocarlos en el caldo manitol.
- Agitar hasta que la saliva y el medio queden perfectamente mezclados.
- Incubar a 37° C por 24 horas.
- Leer cambio de color.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	40 /157



Medir 0.5 ml de saliva para inocular cada medido

Caldo manitol + púrpura de bromocresol



Agitar para obtener una mezcla homogénea

Medio de Snyder líquido



Agitar antes de que el medio se enfríe para obtener una mezcla homogénea

Incubar 24h / 37°C

Observar la actividad de caries por *Streptococcus mutans* con la producción de ácido a partir de manitol. El indicador vira del púrpura al amarillo.

Observar la actividad de caries por microorganismos cariogénicos con la producción de ácido a partir de glucosa. El indicador vira del verde al amarillo.

Si no existe cambio de color a las 24h, incubar por 48 h o hasta 72 h.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	41 /157

## RESULTADOS

### **PRUEBA DE SNYDER**

Registrar el cambio de color de verde a amarillo durante tres días, con base en la siguiente tabla analiza los resultados y correlacionarlos con el índice CPO.

Tiempo de Incubación			
Actividad de caries	24 horas	48 horas	72 horas
Marcada	Positivo	Positivo	Positivo
Moderada	Negativo	Positivo	Positivo
Ligera	Negativo	Negativo	Positivo
<u>Negativa</u>	<u>Negativo</u>	<u>Negativo</u>	<u>Negativo</u>

### **PRUEBA DE MANITOL**

Reportar cambio de color de morado a amarillo a las 24 horas de incubación, si se presenta cambio significa que en la saliva del donador está presente *Streptococcus mutans*. Relacionar este resultado con el índice CPO.

## CUESTIONARIO

- 1.- Mencione las medidas preventivas que le indicaría a un paciente con alto riesgo de caries dental.
- 2.- Explique por qué en un paciente con caries activa se encuentra un mayor número de *Lactobacillus*
- 3.- Mencione los factores que intervienen en el proceso carioso además del bacteriano.
- 4.- Mencione los métodos empleados para la inmunización contra la caries dental.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	0	<b>42 /157</b>

## BIBLIOGRAFÍA

- Broks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (2011). *Microbiología Médica* (25 ed.). Mc. Graw Hill.
- Carrol, K. C., Morse , S. A., & Miller, S. (2011). *Microbiología Médica* (25 ed.). Mc Graw Hill.
- Levison, W., & Jawetz, E. (2006). *Microbiología e Inmunología Médica* (7 ed.). México: El Manual Moderno.
- Liébana, U. J. (2002). *Microbiología Oral* (2 ed.). España: Mc Graw Hill-Interamericana.
- Marsh, P. D., & Martin, M. V. (2011). *Microbiología Oral* (5 ed.). Gran Bretaña: Amolca.
- Negroni, M. (2018). *Microbiología Estomatología; Fundamentso y Guía Práctica* (3 ed.). Argentina: Médica Panamericana.
- Struther, J. K., & Westran, R. P. (2005). *Bacteriología Clpinica*. Barcelo España: Masson.
- Tay, Z. J., Gutierrez, M., López, R., Molina, J., & Manjarrez, M. E. (2012). *Microbiología y Parasitología Clínica* (4 ed.). Ménd



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	43 /157

## PRÁCTICA No. 5

### MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA DE *Mycobacterium* (BAAR+)

#### OBJETIVO

Analizar las características microscópicas del género *Mycobacterium*, por medio de la tinción Ziehl-Neelsen enfatizando en las especies patógenas para el hombre.

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS

- 1.- Enfermedades de importancia para el cirujano dentista ocasionadas por el género *Mycobacterium*.
- 2.- ¿Por qué se utiliza la técnica de Ziehl-Neelsen para el género *Mycobacterium*?

#### FUNDAMENTO TEÓRICO

Las micobacterias se caracterizan por ser bacilos de 0.2 a 0.6 micras de tamaño, aerobios inmóviles, de división lenta, sin cápsula, no formadores de esporas, sensibles a la luz solar, ultravioleta y al calor, su pared celular lipídica es gruesa (hidrofóbica), responsable de su resistencia a la acción del ácido-alcohol (BAAR+).

Las especies de micobacterias patógenas para el hombre son: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium leprae*.

*M. tuberculosis* es el responsable de la tuberculosis pulmonar y esta se transmite por tres vías:

1. Aérea a través de la inhalación de microgotas en aerosoles cuando la persona enferma tose, habla o estornuda, por lo cual, para que una infección pulmonar se produzca, es necesario que los bacilos se instalen en los alvéolos pulmonares.
2. Ingesta de alimentos contaminados, el *M. bovis* se transmite a través de leche de vacas enfermas, produciendo inicialmente lesiones intestinales.
3. Por inoculación directa a través de las heces fecales, orina y esputo.

Las principales puertas de entrada del bacilo, son el sistema respiratorio (forma más común de contagio), el tejido linfático bucofaringeo, el intestino y la piel.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	44 /157

En México, las formas clínicas más frecuentes de la tuberculosis son: pulmonar, ganglionar, renal y meníngea. Por lo que un enfermo de tuberculosis pulmonar no detectado puede infectar entre 10 y 15 personas en el transcurso de un año y de éstos entre 10 y 55% pueden desarrollar la enfermedad en algún momento de su vida ya que el agente causal es liberado directamente al medio cuando habla, tose, estornuda, escupe y canta. Las gotas que se generan se evaporan rápidamente, convirtiéndose en aerosoles de pequeñas partículas (1-3  $\mu\text{m}$ ), las cuales por su tamaño permanecen en suspensión y pueden ser transportadas por el flujo del aire. Cuando una persona sana inhala una mínima parte de esta carga de bacilos dispersada en el aire, su pequeño tamaño facilita que algunos de estos lleguen a los alvéolos pulmonares. Después de la exposición sólo el 5% de los infectados desarrollarán la enfermedad en los dos años siguientes y otro 5% adicional en años posteriores.

La tuberculosis, localizada en la cavidad oral y faríngea, pese a ser la siguiente en frecuencia que afecta el área de oídos, nariz, garganta, cabeza y cuello, es muy rara. La forma primaria oral es mucho más difícil de encontrar que su forma secundaria a otras infecciones en la vía respiratoria, sus características demográficas son en pacientes más jóvenes con enfermedad en las cadenas ganglionares del cuello y se manifiestan como lesiones indoloras en la cavidad oral. La secundaria es causada por la autoinoculación en las personas que tienen afectación pulmonar. La localización, en orden de frecuencia, es: la lengua y las encías, después el paladar, seguido de las amígdalas con los músculos palatogloso y palatofaríngeo, después la úvula, las glándulas salivales y la mucosa alveolar. La forma clínica se identifica por nódulos, úlceras superficiales, placas o lesiones induradas de evolución lenta, aunque también se pueden observar fisuras, vesículas o masas.

Ciertos procedimientos dentales como las preparaciones cavitarias con instrumental rotatorio especialmente a alta velocidad generan aerosoles detectables en el aire del consultorio dental. Cuando dichos procedimientos se realizan en enfermos con tuberculosis, es posible que estas partículas en suspensión contengan bacilos tuberculosos que pueden infectar al odontólogo, a los pacientes, al equipo de salud y convertirse en otra fuente de diseminación de la infección.

La BCG o bacilo de Calmette-Guérin es una vacuna contra la enfermedad de tuberculosis (TB) presenta una eficacia limitada (de 0 al 80%), ya que protege a los niños de meningitis tuberculosa así como de TB diseminada, pero no protege a los adultos de la TB pulmonar ni tampoco evita la TB latente. Esta variación de la eficacia se ha atribuido a diversos factores: geográficos, pérdida de genes necesarios para el desarrollo de inmunidad, pérdida de inducción de la respuesta de los linfocitos CD8+, exposición a micobacterias ambientales o por infección de helmintos previo a la vacunación.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	45 /157

La aparición y diseminación de cepas resistentes a los principales fármacos disponibles para el tratamiento de la TB constituyen un problema para el control de la enfermedad debido al aumento de casos de **TB multirresistente** (TB-MDR) de aquéllos causados por *Mycobacterium* con resistencia in vitro a isoniacida y rifampicina.

En 2006 la OMS reportó la aparición de TB **extremadamente resistente** (TB-XDR) se optó por definirla como aquel caso producido por una cepa de *M tuberculosis* con resistencia demostrada a por lo menos: isoniacida, rifampicina, una fluoroquinolona (ciprofloxacino, levofloxacino, ofloxacino o moxifloxacino) y una droga parenteral de segunda línea (los aminoglucósidos: kanamicina y amikacina, o el polipéptido capreomicina).

A pesar de que la OMS no ha proporcionado la tendencia de la TB-MDR a lo largo del tiempo, esta misma organización estima que anualmente aparecen 650,000 casos de TB multirresistente al menos a isoniacida y rifampicina, 50% de los cuales se registran en India, China y Rusia, mientras que más de 50,000 casos de TB-XDR surgen cada año como resultado de una mala adhesión al régimen terapéutico.

Se ha descrito una nueva forma de TB denominada **totalmente resistente** (TDR), la cual se ha definido como aislados de *M. tuberculosis resistentes* a todos los fármacos de primera y segunda línea, lo que constituye una grave amenaza para el control mundial de la TB.

Este cambio epidemiológico puede atribuirse, en parte, al fracaso en la supervisión del tratamiento, lo que lleva al abandono del mismo y a la aparición de cepas infectantes resistentes.

## MATERIAL Y REACTIVOS

Cepas:

*Mycobacterium phlei*  
*Nocardia sp*

Colorantes Ziehl - Neelsen:

fucsina de Ziehl Neelsen  
alcohol ácido  
azul de metileno



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	46 /157

Otros:

- asa bacteriológica
- portaobjetos
- mechero de Bunsen
- trípode
- pinzas
- rejilla de alambre con tela de asbesto
- recipiente de aluminio, solución desinfectante.
- aceite de inmersión
- recipiente metálico

Equipo:

- microscopio

**SERVICIOS:** agua, luz, gas

## PROCEDIMIENTO

1. A partir de un cultivo con *Mycobacterium phlei*, preparar un frotis. Después de utilizar el asa, **no esterilizarla directamente al fuego**, colocarla en solución desinfectante.
2. A partir de un cultivo con *Nocardia sp*, preparar un frotis. Después de utilizar el asa, **no esterilizarla directamente al fuego**, colocarla en solución desinfectante.
3. Fijar ambos frotis al calor con mucha precaución.
4. Colocar sobre el trípode una rejilla de asbesto y depositar sobre esta el recipiente metálico con agua.
5. En la parte superior del recipiente metálico coloque el frotis y proceda a calentar para iniciar la emisión de vapores.
- 6.- Realizar la tinción de Ziehl-Neelsen

### Tinción de Ziehl-Neelsen:

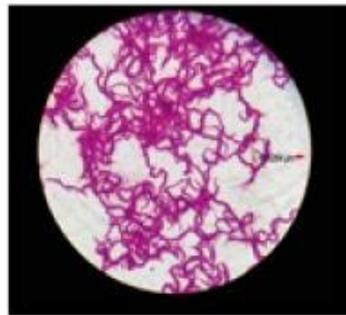
1. Cubrir el frotis con colorante de Ziehl (fucsina básica). Mantenerlo a emisión de vapores durante 7 minutos, procurando que no se seque, adicionando más colorante. Lavar frotis con agua.
2. Decolorar con alcohol ácido. Lavar con agua.
3. Cubrir con azul de metileno durante 30 segundos. Lavar con agua y dejar secar.
4. Observar en el microscopio a 100X (inmersión)



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	<b>0</b>	<b>47 /157</b>



Lectura Ziehl Neelsen de *M. tuberculosis*, se observan cordones a 1000X. Fuente: Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018;35(2):279.



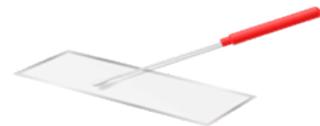
SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	48 /157

**Frotis**

- Mycobacterium phlei*
- Nocardia sp.*



-Colocar el asa bacteriológica en solución desinfectante.  
**NO ESTERILIZARLA AL FUEGO**



**Tinción**

Cubrir el frotis con fucsina de Ziehl y llevar a ebullición por 7 minutos.



Lavar con agua

Decolorar con alcohol ácido



Lavar con agua



Cubrir con azul de metileno durante 30 segundos



Observar en el microscopio a 100X (inmersión)



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	49 /157

## RESULTADOS

- \* Observar y describir la morfología microscópica de cada uno de los microorganismos utilizados.
- \* Los bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) deben observarse de color rojo o rosa.

### Questionario

- 1.- ¿Cuáles son las características microscópicas del género *Mycobacterium*?
- 2.- ¿Cuáles son las características de cultivo de este género?
- 3.- ¿A qué se denomina bacilo ácido alcohol resistente (BAAR)?
- 4.- ¿Qué es la baciloscopia?
- 5.- Mencione qué medidas de bioseguridad debe aplicar el odontólogo ante un paciente con tuberculosis?.
- 6.- ¿Para qué sirve la prueba de la tuberculina?

## BIBLIOGRAFÍA

- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. (2011) Microbiología médica. 25a. ed. México: Mc Graw Hill.
- Carroll, K.C ; Morse S.A; Mietzner, T.A; Miller, S. (2016) Microbiología médica : 27a ed. México Mc Graw Hill.
- Negróni, M. (2018) Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica 3a ed. Buenos Aires: Médica panamericana.
- Nolte WA. (1986) Microbiología odontológica. México: Interamericana.
- Slots J, Taubman MA and Yankell S: (1992) Contemporary oral microbiology and immunology. 3ª ed. Saint Louis: Mosby.
- Willett NP and White RR.(1991) Essential dental microbiology. Norwalk: Appleton & Lange
- Pila Pérez, Rafael; Holguín Prieto, Víctor Adolfo; Pila Peláez, Rafael; Rosales Torres, Pedro; Caballero Hernández, Danay Tuberculosis pulmonar y lingual. Presentación de un caso Revista Colombiana de Gastroenterología, vol. 29, núm. 2, abril-junio, 2014, pp. 183-187. Bogotá, Colombia <https://scielo.isciii.es/pdf/asisna/v30s2/original5.pdf>  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2020/pt202g.pdf>  
[https://support.google.com/websearch/answer/2364942?p=medical\\_conditions&hl=es-419](https://support.google.com/websearch/answer/2364942?p=medical_conditions&hl=es-419)  
(fotos)



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	50 /157

**Práctica No. 6**  
**MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA EN PATOLOGIA PULPAR**  
**Y ABSCESO DENTAL**

**OBJETIVO**

Conocer las características morfológicas y metabólicas de los microorganismos involucrados en la etiología de estas infecciones, así como su aislamiento e identificación.

**CONOCIMIENTOS PREVIOS**

1. Reacciones pulpares y su clasificación clínica.
2. Definición de absceso dental.
3. Tratamiento de patologías pulpares.
4. Efectos de los factores de virulencia microbianos.

**FUNDAMENTO TEORICO**

Los factores que intervienen en la infección pulpar se pueden clasificar en endógenos y exógenos.

- Endógenos. Ocasionadas por enfermedades sistémicas como la diabetes, hipofosfatemia u otros procesos idiopáticos que pueden ocasionar una lesión pulpar.
- Exógenos. Son las más prevalentes y pueden clasificarse en físicas, químicas y microbianas. Esta última es la más importante en agresiones a la pulpa dental, para ello se necesita una puerta de entrada que permita la infección.

Existen diferentes vías de acceso para que los microorganismos puedan llegar a la pulpa dental o a los tejidos apicales y ejercer su acción patógena.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	51 /157

1. *Comunicación directa de la cavidad oral con la pulpa.* Esta situación es originada por diferentes causas, entre las que se encuentran: lesiones por caries, fracturas dentales, fracturas que involucren grietas no fisuras del esmalte, bruxismo (atricción patológica por bruxismo).
2. *Túbulos dentinarios.* La principal causa de la infección de la pulpa dental es la comunicación con la dentina cariada a través de los túbulos dentinarios.
3. *Vía periodontal.* Al formarse bolsas periodontales de más de 6 mm, pueden llegar a la proximidad del agujero apical.
4. *Anacoresis.* Es el mecanismo por el cual, las bacterias pueden colonizar a través de la sangre o la linfa, para que esto se produzca debe de existir un proceso de hiperemia pulpar.

Asociación de algunas bacterias específicas con los signos y síntomas endodónticos (dolor, inflamación, sensibilidad a la percusión). Gómez y Drucker 94:

Bacterias grampositivas: Se consideran colonizadores del 80% del espacio pulpar.

*Peptoestreptococcus sp, P. micros, Actinomices meyeri, Bacteroides gracilis, L. cascii, Prevotella denticola, etc.*

Bacterias gramnegativas: *Prevotella sp, Porphyromonas, Bacteroides endodontalis, Fusobacterium necrophorum, etc.*

Con las nuevas técnicas de identificación ha sido posible detectar un mayor número de microorganismos capaces de producir infección, en donde el número de unidades formadoras de colonias (UFC) oscila entre 10<sup>2</sup> y 10<sup>8</sup>.

Los abscesos y la celulitis son originadas por la presencia de bacterias que colonizan los tejidos perirradiculares. (figura 1).



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	52 /157

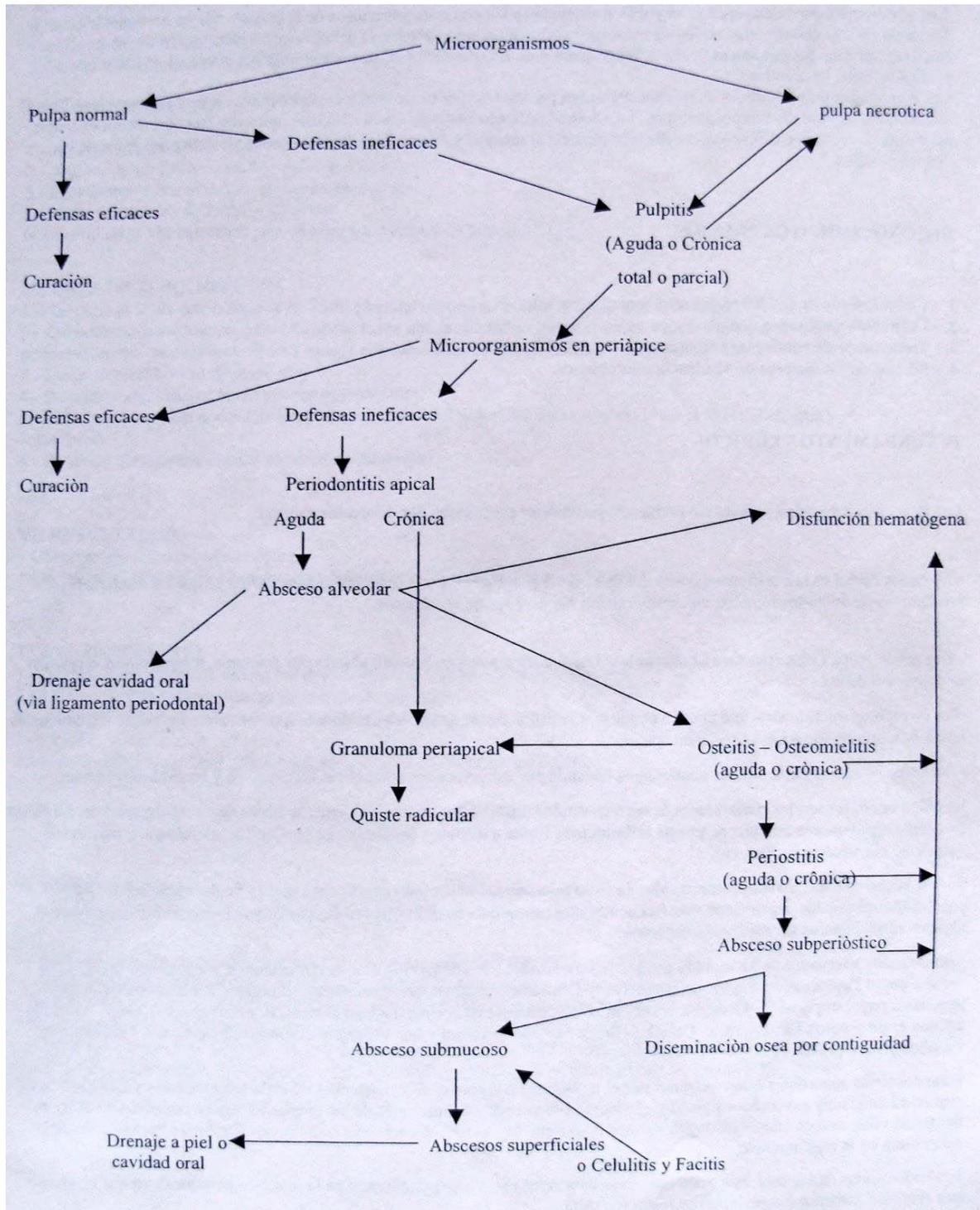


Figura 1. Esquema de la posible evolución de la infección pulpar y perirradicular.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	53 /157

## MATERIAL Y REACTIVOS

1 tubo caldo BHI (infusión cerebro corazón) con muestra de absceso dentoalveolar

1 tubo caldo de tioglicolato sembrado con muestra de absceso dentoalveolar

2 cajas agar sangre

1 caja agar Voguel Johnson

1 caja agar Bilis Esculina

1 tubo de plasma humano

Equipo de Gram

Peróxido de hidrógeno

Mechero de Bunsen e incubadora

## SERVICIOS

Agua, luz, gas.

## PROCEDIMIENTO

**Esta práctica se lleva a cabo en dos sesiones**

### PRIMERA SESIÓN

1. Tomar con un hisopo estéril una muestra de caldo BHI con muestra de absceso dentoalveolar y descargar en un extremo de las cajas agar sangre y agar Voguel Johnson, realizar sembrado por estría cruzada e incubar a 37° durante 24 horas.
2. Tomar con un hisopo estéril una muestra de caldo tioglicolato con muestra de absceso dentoalveolar y descargar en un extremo de las cajas agar sangre y agar Bilis Esculina, realizar sembrado por estría cruzada e incubar en anaerobiosis a 37° durante 24 horas.
3. Tomar con un hisopo estéril una muestra de caldo BHI y descargar en un extremo de la caja agar Voguel Johnson, realizar sembrado por estría cruzada e incubar a 37° durante 24 horas.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	0	<b>54 /157</b>

## SEGUNDA SESIÓN

1. Seleccionar colonias bien aisladas de las cuatro cajas sembradas en la sesión anterior. Anotar en tablas su morfología colonial y condiciones bajo las que crecieron (aerobiosis y anaerobiosis).
2. A partir de los cuatro medios de cultivo sembrados, hacer una selección de las colonias, realizar un frotis de cada uno de ellos y teñir por técnica de Gram. Anotar los resultados en una tabla.
3. De las colonias sembradas en anaerobiosis que resulten ser cocos Gram positivos, hacer prueba de catalasa.
4. Si se obtiene una colonia de *Staphylococcus* en el medio de Vogel Johnson, hacer prueba de catalasa y coagulasa.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



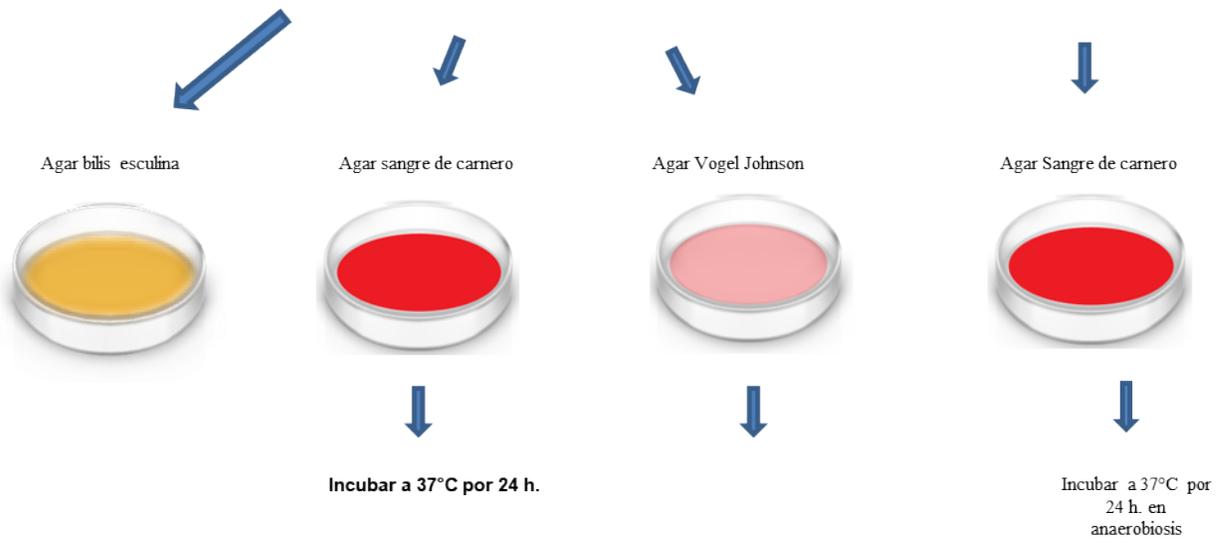
Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	55 /157

Previo a la sesión Práctica

Tomar muestra de la porción purulenta de un conducto radicular e inocular en los caldos de cultivo, incubar a 37° C por 24/48 hrs.



Primera sesión



Segunda sesión

Observar y describir la morfología colonial en las cuatro cajas de petri

Realizar la prueba de Catalasa y tinción de Gram





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	56 /157

## RESULTADOS

1. De cada una de las cajas sembradas, anotar: morfología colonial, requerimientos de oxígeno, tipo de hemólisis, morfología microscópica, Gram, prueba de catalasa y coagulasa.
2. De las colonias sembradas en anaerobiosis:
  - ✓ que resulten ser cocos Gram positivos reportar como posible *Peptoestreptococcus*,
  - ✓ las que resulten ser cocos Gram negativos, reportar como sospechosos de *Veillonella*.
  - ✓ los bacilos Gram positivos reportar como posibles bacilos difteroides o *Lactobacillus*,
  - ✓ los bacilos Gram negativos reportar como posibles *Porphyromonas* o *prevotella*, se observarán colonias negro-pigmentadas.

## CUESTIONARIO

1. ¿Qué microorganismos son los más frecuentemente aislados en infecciones de pulpa y absceso dental?
2. Explique ¿para qué se utiliza el medio de tioglicolato?
3. Mencione tres factores de virulencia producidos por bacterias asociadas a abscesos dentoalveolares y explique su función.
4. Describa las características clínicas e histológicas del absceso dentoalveolar.
5. ¿Qué importancia tiene el control bacteriológico en los tratamientos del sistema de conductos?
6. Mencione el antibiótico de elección por vía oral para el tratamiento de un absceso apical agudo, en pacientes alérgicos y no alérgicos a la penicilina, y su posología.

## BIBLIOGRAFÍA

- Cohen S. (2016). Las vías de la pulpa. 11a ed. Estados Unidos: Elsevier.
- González FRM, Molina LJ. (2009) Microbiología bucal. 4a. ed. México: Méndez editores.
- Guyen K, Huma O, Gulcin A. Mugem G. Omour G. Kadriye S, Bekir S. (2011). Antibacterial activity of propolis versus conventional endodontic desinfectans against *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules. Journal of Endodontics;37(3): 376-381.
- Liébana UJ. (2002). Microbiología oral. 2a. ed. España: Mc Graw Hill-Interamericana.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	<b>0</b>	<b>57 /157</b>

Código	Fecha de emisión	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML11</b>	<b>06/08/2021</b>	<b>0</b>	<b>57/147</b>

Marsh PD, Martin MV. (2011). Microbiología Oral. 5a. ed. Gran Bretaña: Amolca.

Negróni M. (2018). Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 3a. ed.

Buenos Aires: Médica Panamericana.

Nolte WA. (1986). Microbiología Odontológica. 3a. ed. México: Interamericana.

R. Nagesward Rao. (2011). Endodoncia Avanzada. México: Amolca.

Willet NP, White RR. (1991). Essential dental microbiology. Ed. Appleton Lange. USA.

Zeyun M, Yixing W, Xiaofei Z, Chengfei Z, Shenglin L, Lijian J, Ya S, Markus H. (2011). Role of polymorphonuclear neutrophils in the clearance of *Enterococcus faecalis* derived from saliva and infected root canals. Journal of Endodontics;37(3):346-352.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	58 /157

## Práctica No. 7

### MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA EN ENFERMEDAD PERIODONTAL

#### OBJETIVO

Conocer las principales características morfofisiológicas de los microorganismos involucrados en el desarrollo de la enfermedad periodontal.

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS

- 1.- Definición de biofilm y cálculo dental
- 2.- Definición de enfermedad periodontal
- 3.- Clasificación de enfermedad periodontal

#### FUNDAMENTO TEÓRICO

Se denomina periodonto a los tejidos que revisten y soportan al diente, incluyendo dos grandes grupos: tejido de protección y revestimiento (encía), y tejido de soporte o inserción (ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar). Su principal función consiste en unir al diente con el ligamento óseo y mantener la integridad de la mucosa masticatoria de la cavidad bucal. Es también conocido como aparato de inserción o tejido de sostén de los dientes, constituye una unidad de desarrollo biológico-funcional que se modifica con la edad, estado sistémico y medio ambiente bucal.

La periodontitis es la inflamación de los tejidos que rodean al diente. Por lo general un cambio progresivamente destructivo lleva a la pérdida del ligamento y hueso alveolar, por una extensión de la inflamación de la encía al ligamento y hueso adyacente. La destrucción de los tejidos de soporte del diente se produce debido a una interacción compleja entre las bacterias y el hospedador. *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* parecen ser los patógenos periodontales más importantes.

La diferencia entre gingivitis y periodontitis tiene un contenido clínico y anatómico más que microbiológico. Desde un punto de vista anatómico, se produce periodontitis cuando



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	59 /157

la agresión bacteriana es capaz de generar una lesión de las fibras más coronales del ligamento periodontal, o fibras transeptales, con afección y destrucción de los tejidos de soporte del diente. Actualmente la presencia de placa dentobacteriana o cálculo supragingival no indica que exista enfermedad periodontal. No todos los individuos con gingivitis progresan a una periodontitis.

Para que esto ocurra, es preciso que intervengan una serie de factores, el siguiente esquema (Fig 1), representa los distintos factores que contribuyen a la iniciación y progresión de la periodontitis:

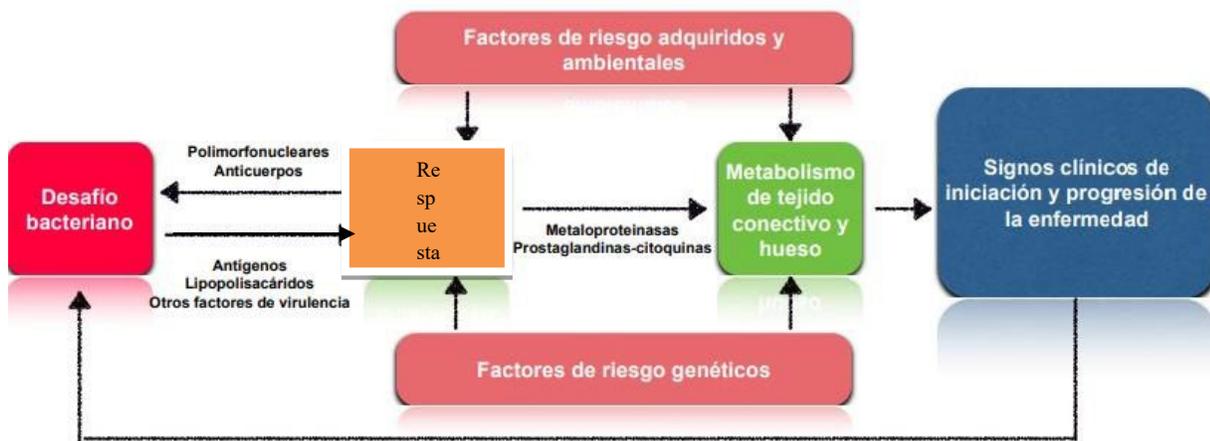


Fig 1. Factores que contribuyen a la iniciación y progresión de la periodontitis

Los más importantes con respecto al área microbiológica son los factores microbianos, es decir; la placa, cálculo, microbiota oral y los factores locales del huésped, a nivel de periodonto, forman una hiper-respuesta donde pueden intervenir las hipersensibilidades tipo I, III y IV, y la hiper-activación del complemento por vía alterna.

La gingivitis no tratada conduce a una periodontitis. Las observaciones clínicas junto con la investigación microbiológica básica han permitido una clasificación descriptiva de varios tipos de periodontitis, podemos distinguir dos grandes clases, las más importantes son: *Periodontitis crónica* y *Periodontitis agresiva*.

*Periodontitis crónica*: es la más común, se caracteriza por ser de evolución lenta, la formación de bolsas periodontales y la reabsorción del hueso alveolar pueden demorar



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	60 /157

años y el tiempo que transcurre en que se inicia la enfermedad y en que se llega a perder un diente, puede tardar décadas.

Periodontitis agresiva: Se caracteriza por muy rápida evolución en destrucción de los tejidos y porque el tiempo desde su inicio hasta la pérdida del diente, puede ser muy breve. La velocidad de su avance es lo que determina su gravedad.

En los últimos años se han definido patógenos relacionados con el inicio y progresión de la periodontitis, y se han clasificado en grupos según su asociación con la enfermedad o con otras bacterias (Socransky et al., 1998, Haffajee et al., 2008).

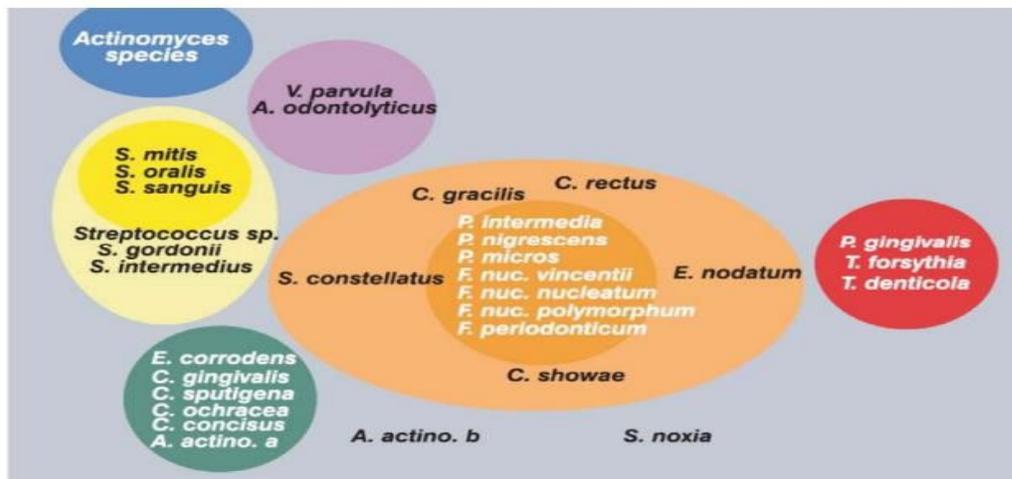


Fig. 2. Diagrama de grupos de bacterias asociadas a enfermedades gingivales.

Socransky y col. (1998) establecieron el diagrama (Fig 2) que representa las relaciones entre bacterias del Biofilm;

- Las especies del complejo rojo están fuertemente asociadas con la profundidad de la bolsa y con el sangrado al sondaje. *Tannerella forsythia*, *Porphyromona gingivalis* y *Treponema denticola* se encuentran en mayor número según aumenta la profundidad de bolsa.
- Los microorganismos del complejo naranja también muestran una asociación significativa con la profundidad de bolsa.
- *Actinomyces naeslundii* y *Streptococcus sanguis* son ejemplos de especies bacterianas que no se han visto asociadas de manera estadísticamente significativa con la profundidad de bolsa.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	61 /157

Se ha descrito una gran variedad de enzimas producidas por bacterias presentes en el surco gingival, cuyo sustrato son componentes del hospedero lo que resulta en la formación de bolsas periodontales y destrucción de los tejidos (Ver tabla I).

Existe sinergismo entre las bacterias del surco gingival, por ejemplo en infecciones producidas por *Streptococcus* anaerobios orales productores de hialuronidasa, que facilita la invasión bacteriana y junto con las bacterias productoras de colagenasa, provocan la destrucción del tejido de soporte y pérdida de los órganos dentales.

**Tabla 1**

Tipo de bacterias	Enzimas producidas	Sustratos
<i>Staphylococcus</i>	Hialuronidasa, coagulasa, lipasa, desoxiribonucleasa.	Ac. hialurónico, plasma, ADN, regiones sebáceas
<i>Streptococcus</i>	Hialuronidasa, estreptoquinasa estreptodornasa, hemolisinas.	Ácido hialurónico, fibrina, ADN, plasma
Coryneformes	Hialuronidasa, neuroaminidasa	Ácido hialurónico, sistema nervioso central
Fusobacterias	Colagenasa, fosfolipasa, proteasas	Plasma, fosfolípidos, proteínas
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Hialuronidasa, colagenasa, epiteliotoxinas, endotoxina	Ac, hialurónico, colágeno, epitelio, endotelio.
Cocos Gram (-)	Endotoxina, lipasas	Proteínas, lípidos



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	62 / 157

## MATERIAL Y REACTIVOS

### Muestras bacterianas:

1 tubo con muestra de cálculo dental en caldo tioglicolato.

### Medios de cultivo:

1 caja agar sangre

1 caja agar sangre de carnero al 5% con kanamicina, hemina y menadiona

### Pruebas bioquímicas:

2 tubos caldo lactosa + rojo fenol

2 tubos caldo manitol + rojo fenol

2 tubos caldo sacarosa + rojo fenol

1 tubo caldo nitrato

### Reactivos:

Peróxido de hidrógeno al 3%

Ácido sulfanílico

Solución alfa-naftilamina

Colorantes:

1 equipo de Gram

Portaobjetos

1 paquete con hisopos estériles.

Cámara de anaerobiosis

**Servicios:** Agua, luz, gas.

## PROCEDIMIENTO

Esta práctica se realiza en 2 sesiones:

### PRIMERA SESIÓN:

1. Tomar una muestra de caldo tioglicolato con cálculo dental con un hisopo estéril, y sembrar por estría cruzada la caja de agar sangre e incubar en condiciones de anaerobiosis a 37°C por 24 a 48 hrs. y refrigerar para la segunda sesión de la práctica.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	0	<b>63 /157</b>

2. Tomar una muestra de caldo tioglicolato con cálculo dental con un hisopo estéril, y sembrar por estría cruzada la caja de agar sangre con kanamicina, hemina y menadiona, incubar en condiciones de anaerobiosis a 37°C por 24 a 48 horas y refrigerar para la segunda sesión de la práctica.

### *SEGUNDA SESIÓN*

1. Seleccionar colonias aisladas de las 2 placas sembradas y anotar su morfología colonial.
2. De las colonias seleccionadas hacer un frotis de cada una de las colonias y teñirlos por la técnica de Gram, anotar los resultados y ver la tabla 2.
3. Elegir colonias con morfología típica y tipo de Gram correspondiente a las descritas en la tabla 2 para inocular las pruebas bioquímicas de la siguiente manera:
  - A partir de la caja agar sangre con kanamicina, hemina y menadiona, inocular colonias aisladas en los caldos lactosa, manitol, sacarosa.
  - A partir de la caja de agar sangre inocular colonias aisladas en los medios líquidos de manitol, sacarosa, lactosa y nitrato.
4. Realizar prueba de catalasa de cada una de las cajas, en un portaobjetos colocar una gota de peróxido de hidrógeno y agregar una asada de la colonia a probar.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	64 /157

**Previo a la sesión Práctica**

Tomar muestra de cálculo subgingival e inocular en el caldo tioglicolato, incubar a 37°C por 24/48 horas

↓  
Caldo tioglicolato enriquecido



Primera sesión

Agar sangre de carnero (ASC)



24h/37°C



ASC+ Kanamicina+hemina + menadiona



24h/ 37°C anaerobiosis



Observar y describir la morfología colonial característica

Segunda sesión

Catalasa y tinción de Gram



Pruebas bioquímicas



Caldo manitol + rojo de fenol  
Caldo sacarosa + rojo de fenol  
Caldo lactosa + rojo de fenol  
Caldo Nitrito



Caldo manitol + rojo de fenol  
Caldo sacarosa + rojo de fenol  
Caldo lactosa + rojo de fenol

Incubar por 24h a 37°C

Observar producción de ácido a partir de los carbohidratos

Agregar los reactivos al caldo Nitrito para determinar la reducción de nitrato después de la incubación.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	65 /157

**Tabla 2**

Medio de cultivo	Forma / Tipo de Gram	Género probable
Agar sangre con kanamicina, hemina y menadiona	Bacilos Gram negativos	<i>Porphyromona gingivalis</i>
Agar sangre	Bacilos Gram positivos	<i>Actinomyces</i> <i>Rothia</i> <i>Arachnia</i>

**Tabla 3. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Actinomyces*, *Arachnia* y *Rothia***

	1	2	3	4	5	6	7	8
Crecimiento anaerobiosis	+	+	+	+	+	+	+	-
Catalasa	-	-	-	-	+	-	-	+
Lactosa	+	+	+	+	+	+	+	-
Maltosa	+	+	+	+	+	-	+	+
Manitol	w	+	-	-	-	d	+	-
Sacarosa	+	+	+	+	+	+	+	+
Reducción de NO <sub>3</sub>	+	d	-	+	+	+	-	+
Licuefacción de gelatina	-	-	-	-	-	-	-	+

1. *Arachnia propionica*
2. *Actinomyces israelii*
3. *Actinomyces bovis*
4. *Actinomyces naeslundii*
5. *Actinomyces viscosus*
6. *Actinomyces odontolyticus*
7. *Actinomyces eriksonii*
8. *Rothia dentocariosa*

w- reacción débil  
d- diferentes reacciones



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	66 /157

Tabla 4.

**PARA IDENTIFICACIÓN DE Bacteroides, Porphyromona, Prevotella, Eikenella y Veillonella**

	1	2	3	4
Crecimiento en anaerobiosis	+	-	+	-
Catalasa	+	-	-	d
Oxidasa	+	-	+	d
Lactosa	d	+	-	-
Manitol	+	+	-	-
Sacarosa	-	+	-	-
Hemolisis	-	+	-	-
Pigmento negro	-	+	-	-

1. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
2. *Porphyromona gingivalis*
3. *Eikenella corrodens*
4. *Veillonella sp.*  
(d- diferentes reacciones)

## RESULTADOS

- a. Prueba de catalasa: si hay presencia de burbujas la prueba es positiva.
- b. Fermentación de carbohidratos: esta se observa por el cambio de color del indicador rojo fenol a amarillo (viraje de color) indicando producción de ácido.
- c. Reducción de nitratos a nitritos: añadir al tubo que contiene caldo nitrato 2 gotas de ácido sulfanílico y 2 gotas de  $\alpha$ -naftilamina, el desarrollo de un color rosa indica que la prueba es positiva.
- d. Interpretar los resultados según las tablas de identificación correspondientes y reportar género y especie probablemente aislados. Tabla 3 y 4.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	67 /157

## CUESTIONARIO

1. Diga ¿qué factores de patogenicidad posee *Porphyromona gingivalis* y como intervienen en la patogénesis de la enfermedad periodontal?
2. Relacione la destrucción tisular en la enfermedad periodontal con las reacciones de hipersensibilidad.
3. Defina enfermedad periodontal con sus propias palabras.
4. Explique ¿para que se utilizan las pruebas bioquímicas?

## BIBLIOGRAFÍA

- American Academy of Periodontology. (1999). Consensus Report: Chronic Periodontitis. *Annals of Periodontology*;4(1):pp 38.
- Armitage G. (2000). Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology*;53:70-88.
- Armitage G. (1999). Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontology*;4:1-6.
- Donald P, Moromi H, Martínez E, Mendoza A. (2010). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Patógeno importante en la periodontitis. *Odontología Sanmarquina*; 13(2): 42-45.
- Fine D, Markowitz K, Furgang D and Velliyagounder K. (2010). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* as an Early Colonizer of Oral Tissues: Epithelium as a Reservoir. *Journal of Clinical Microbiology*;48(12):4464-4473.
- Glossary of Periodontal Terms. (2001). The American Academy of Periodontology. 4<sup>th</sup> ed; pag 22.
- Haffajee A, Socransky S. (2005). Microbiology of periodontal diseases: introduction. *Periodontology*;38:9-12.
- Henderson B, Nair S, Ward J, Wilson M. (2003). Molecular pathogenicity of the oral opportunistic pathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Annual Reviews of Microbiology*;57:29-55



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	68 /157

- Henderson B, Ward J, Ready J. (2010). *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*: a triple A\* periodontopathogen *Periodontology* 2000; 54:78-105.
- Henderson B, Wilson M, Sharp L and Warda J. (2002). *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal Medical Microbiology. Society for General Microbiology*; 51: 1013-1020.
- Kornman, K. S. (2008). Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol*, 79, 1560-8.
- Mombelli A., Casagni F., Madianos P.N. (2002) Can presence or absence of periodontal pathogens distinguish between subjects with chronic and aggressive periodontitis? A systematic review. *Journal Clinical Periodontology*; 29(Suppl. 3): 10-21.
- Newman M, Takei H, Carranza F. (2012). *Carranza's Clinical Periodontology*. 11 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Norskov- Lauritsen N, Kilian M. (2006). Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus saphrophilus*, *Haemophilus Haraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*; 56: 2135-2146.
- Parameter on Aggressive Periodontitis. (2000) Parameters of Care Supplement. *Journal of Periodontology*; 71:867-869.
- Periasamy S, Kolenbrander PE. (2009). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Builds mutualistic Biofilm communities with *Fusobacterium nucleatum* and *Veillonella* species in saliva. *Infection and Immunity*; 77(9):3542- 51.
- Ruiz M, Burguera L, Rodríguez A. (2003). Periodontitis agresiva causada por *Porphyromonas gingivalis*. Reporte de un caso. *MedULA Revista de la Facultad de Medicina. Venezuela*; 12 (1-4).
- Rylev M, Kilian M. (2008). Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *Journal Clinical Periodontology*; 35 (Suppl. 8): 346-361.
- Socransky S, Haffajee A. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000; 38:135-187.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	69 /157

## Práctica No. 8

### IDENTIFICACIÓN DE CANDIDA EN CAVIDAD ORAL

#### OBJETIVO

Identificar las características morfológicas y fisiológicas del agente causal de la candidiasis bucal.

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS

1. Morfología de *Candida albicans*.
2. Patologías de cavidad oral involucradas con este género.

#### FUNDAMENTO TEÓRICO

La candidiasis es la micosis oportunista por excelencia, presenta una gran gama de cuadros clínicos, pudiendo ser una enfermedad superficial o atacar órganos profundos, así como cursar en forma crónica, aguda e incluso, fulminante. La enfermedad puede ser causada por varias especies del género *Candida*, pero *Candida albicans* es su agente etiológico más importante. La infección es generalmente endógena ya que *Candida sp.* coloniza al organismo desde los primeros días de nacimiento, penetrando por vía oral.

*Candida albicans* se encuentran en el tracto gastrointestinal habitando boca, laringe, faringe, intestino delgado y grueso. Su número en estos sitios se puede incrementar por múltiples factores como inmunodepresión, uso prolongado de antibióticos, cambios hormonales, enfermedades metabólicas, uso de prótesis, etc. Dependiendo del sitio que parasite será el nombre que llevará (Ej. Endocarditis, C. broncopulmonar, Oniquia, Paroniquia, Meningoencefálica, vulvovaginitis, etc).

*Candida albicans* es un hongo dimórfico, lo cual significa que puede transitar de una forma unicelular a una forma pluricelular. La forma unicelular también denominada levadura es un comensal del organismo, sin capacidad para invadir a los tejidos. Sin embargo, cuando este hongo adquiere una forma pluricelular esto le confiere la facultad de invadir los tejidos provocando enfermedad. La transición de la forma unicelular a pluricelular inicia con la formación de un tubo germinativo en la levadura y la posterior producción de pseudohifas, hifas y micelio. Mediante el uso de medios de cultivo apropiados, es posible visualizar en el laboratorio, las características dimórficas de *Candida albicans*.

Para diferenciar a *Candida albicans* de otras especies, se utilizan pruebas específicas, como la formación de tubo germinativo, esta prueba se realiza en suero, es presuntiva de *C. albicans* y de *C. dubliniensis*, es importante remarcar que después del periodo de



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	70 /157

incubación que es de 3 a 3.5 horas, todas las especies de *Candida* pueden formar tubos germinativos, excepto *C. glabrata*.

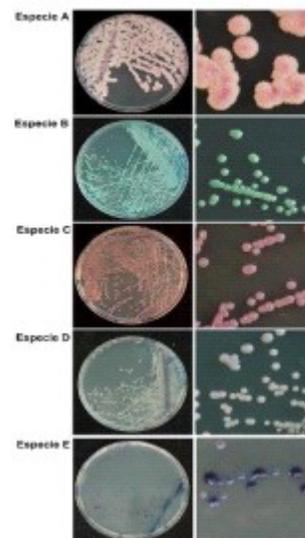
La producción de pseudomicelio y clamidoconidios, se lleva a cabo en medios simples como agar harina de maíz (Corn meal), agar papa dextrosa.



Regezi J., Sciubba JJ, Jordan RCK. Oral pathology

EXISTEN MAS DE 150 ESPECIES DE CANDIDA IDENTIFICADAS.  
SOLO 9 SE CONSIDERAN PATOGENAS EN HUMANOS.

- *Candida albicans* (B)
- *Candida guilliermondi*
- *Candida krusei* (A)
- *Candida glabrata* (C)
- *Candida parapsilosis*
- *Candida tropicalis* (E)
- *Candida pseudotropicalis*
- *Candida lusitaniae*
- *Candida dubliniensis*
- (D) indeterminada

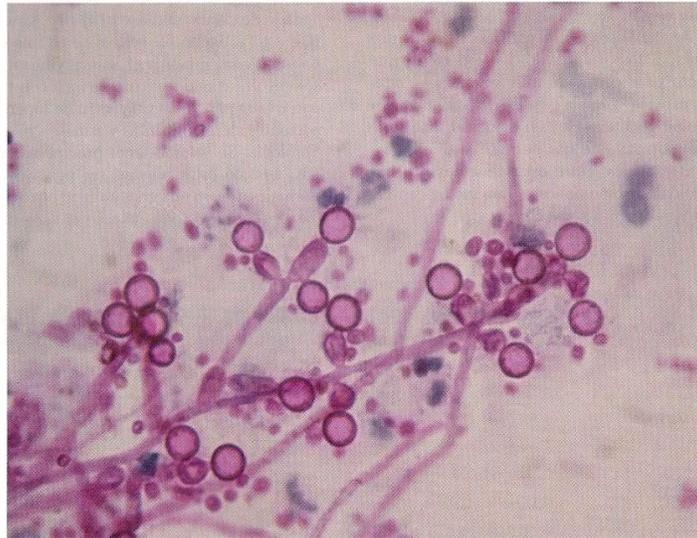




SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
 LABORATORIOS DE DOCENCIA  
 MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
 MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
 SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	71 /157



Clamidoconideos en agar Harina de Maíz, Regezi J., Sciubba JJ, Jordan RCK. Oral pathology

Para confirmar a que especie pertenece *Candida* hay que realizar pruebas bioquímicas como son la fermentación (zimograma) y la asimilación (auxonograma) de carbohidratos.

Especie	Zimograma						Auxonograma					
	Glucosa	Galactosa	Manosa	Sacarosa	Lactosa	Rafinosa	Glucosa	Galactosa	Manosa	Sacarosa	Lactosa	Rafinosa
<i>albicans</i>	±	±	±	∇	=	=	±	±	±	±	=	=
<i>dublinsiensis</i>	±	±	±	∇	=	=	±	±	±	±	=	=
<i>famata</i>	∇	=	=	=	=	∇	±	±	±	±	∇	±
<i>glabrata</i>	±	=	=	=	=	=	±	=	=	=	=	=
<i>guillermoidii</i>	±	±	=	±	=	±	±	±	±	±	=	±
<i>krusei</i>	±	=	=	=	=	=	±	=	=	=	=	=
<i>parapsilosis</i>	±	∇	=	=	=	=	±	±	±	±	=	=
<i>tropicalis</i>	±	±	±	=	=	=	±	±	±	±	=	=

Tabla. Fermentación y asimilación de carbohidratos del género *Candida*



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	72 /157

Es viable valorar otras características que nos ayudan en la tipificación, como son resistencia a la cicloheximida (actidione), reducción de sales de tetrazolio, utilización de nitratos y presencia de ureasa. La resistencia al actidione puede medirse con el crecimiento en medio de Sabouraud más antibiótico, la prueba de tetrazolio es importante para completar la identificación. La presencia de ureasa y la utilización de nitratos dan oportunidad para distinguirla de otros géneros de levaduras como *Cryptococcus*.

En 1995 Sullivan y Col. Identificaron una especie nueva o emergente a la que denominaron *C. dubliniensis*, en pacientes con VIH-SIDA la mayoría resistentes al fluconazol; actualmente esta especie se ha aislado también en diabéticos y otros grupos.

Esta especie es muy similar a *C. albicans* (casi gemela) y sólo se distinguía por secuencialización genética, hoy en día existen pruebas fenotípicas para diferenciarlas.

## MATERIAL Y REACTIVOS

**Cepa:** *Candida albicans*

### Medios de cultivo:

- 1 caja agar dextrosa Sabouraud.
- 1 caja agar harina de maíz sembrada con *Candida albicans*
- 1 caja agar base levadura - nitrógeno + púrpura de bromocresol
- 1 tubo Durham con caldo levadura y dextrosa + púrpura de bromocresol
- 1 tubo Durham con caldo levadura y maltosa + púrpura de bromocresol
- 1 tubo Durham con caldo levadura y sacarosa + púrpura de bromocresol
- 1 tubo Durham con caldo levadura y lactosa + púrpura de bromocresol
- 1 tubo Durham con caldo levadura y galactosa + púrpura de bromocresol
- 1 tubo Durham con caldo levadura y trehalosa + púrpura de bromocresol
- 1 tubo Durham con caldo levadura y manitol + púrpura de bromocresol
- 1 tubo con 10 discos estériles de papel filtro
- 1 tubo 0.5 ml. de suero humano
- 1 tubo con solución al 20% de dextrosa estéril
- 1 tubo con solución al 20% de maltosa estéril
- 1 tubo con solución al 20% de sacarosa estéril
- 1 tubo con solución al 20% de lactosa estéril
- 1 tubo con solución al 20% de galactosa estéril



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	73 /157

1 tubo con solución al 20% trehalosa estéril

1 tubo con solución al 20% manitol estéril

Colorantes para tinción de Gram

### Material

Pinzas

### Equipo

1 microscopio

Incubadora

**SERVICIOS:** Agua, luz, gas.

## PROCEDIMIENTO

### I. PRUEBA DE PRODUCCIÓN DE TUBOS GERMINATIVOS

1. A partir de una colonia aislada en medio Sabouraud o del tubo inclinado, tomar un pequeño inóculo y suspenderlo en un tubo que contiene 0.5 ml de suero humano.
2. Incubar a 37°C por más de tres horas.

### II. PRODUCCIÓN DE CLAMIDOSPORAS EN AGAR HARINA DE MAÍZ

1. Abrir la caja de Petri con agar harina de maíz sembrada con *Candida albicans* y colocar un cubreobjetos.
2. Observar la presencia de clamidosporas con el objetivo de 10x y 40x, teniendo cuidado de no introducir el objetivo en el agar.

### III. PRUEBA DE ASIMILACIÓN DE CARBOHIDRATOS.

1. En una placa de agar base levadura – nitrógeno + púrpura de bromocresol, sembrar por estría masiva *C. albicans*.
2. Colocar discos de papel filtro impregnados con las diferentes soluciones de carbohidratos, distribuirlos lo más separado posible en la placa.
3. Incubar por 24 horas a 37°C.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	74 /157

#### IV. PRUEBA DE FERMENTACIÓN DE CARBOHIDRATOS.

1. A cada tubo Durham con caldo levadura - nitrógeno + púrpura de bromocresol + carbohidrato, inocular por agitación *C. albicans*.
2. Incubar de 24 a 48 horas a 37°C.

#### V. TINCION DE GRAM

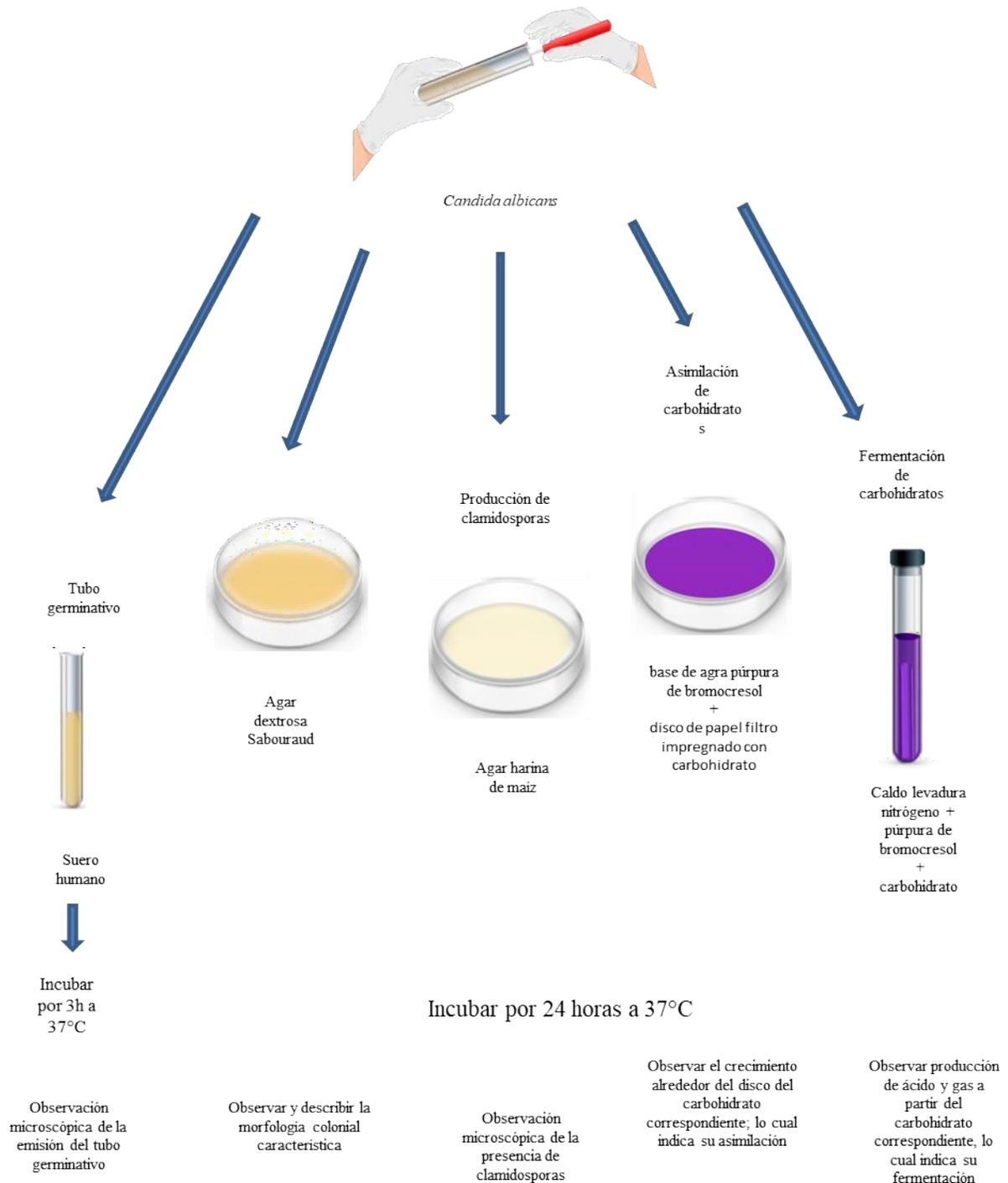
1. Realizar la Tinción de Gram
2. Observar al microscopio en 100X.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	75 /157





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	76 /157

## RESULTADOS

### I. TUBO GERMINATIVO.

Colocar en un portaobjeto una gota de suero incubado, colocando encima un cubreobjeto y examinar a seco débil para la presencia de tubo germinativo, observándose un apéndice largo del tamaño de 2 a 3 veces la célula levaduriforme.

### II. AGAR HARINA DE MAÍZ.

Observar al microscopio la formación de clamidosporas de pared gruesa al final de las pseudohifas.

### III. AGAR BASE LEVADURA – NITROGENO + PURPURA DE BROMOCRESOL.

El cambio de color del medio y/o la presencia de crecimiento alrededor del disco indica la asimilación del carbohidrato contenido en el disco.

### IV. TUBO DURHAM CON CALDO LEVADURA – NITROGENO + PURPURA DE BROMOCRESOL.

Después de la incubación, se observaran dos reacciones:

-La formación de una burbuja por producción de gas (fermentación, zimograma) el cual es el único criterio de fermentación de carbohidratos.

-El vire del indicador puede ser solo asimilación del carbohidrato (auxonograma).

### V. TINCION DE GRAM

Observar la morfología microscópica de *Candida albicans*.

## CUESTIONARIO

1. Explique el fundamento de las pruebas de asimilación y fermentación de carbohidratos por *Cándida*.
2. Explique el cuadro clínico de la candidiasis eritematosa oral y mencione la edad en la que se presenta con más frecuencia.
3. Investigue la epidemiología en México de la candidiasis oral.
4. Explique el término oportunista y cuáles son los factores predisponentes de las candidiasis.
5. Investigue el tratamiento de la candidiasis local y sistémica.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	77 /157

## BIBLIOGRAFIA

- Bagán SJV. (2010) Medicina bucal. 2a. ed. España: Medicina oral S.L.
- Castellanos SJL, Díaz GLM, Gay ZO.(2015) Medicina en odontología: manejo dental de pacientes con enfermedades sistémicas. 2a. ed. México: El Manual Moderno.
- Engleberg NK, Di Rita VJ, Dermody TS. (2013) Mecanismos de las enfermedades microbianas. 5a. ed. Filadelfia.
- González FRM, Molina LJ. (2009) Microbiología bucal. 4a. ed. México: Méndez editores.
- Liébana UJ. (2002) Microbiología oral. 2a. ed. España: Mc Graw Hill-Interamericana.
- Lira LA, Rondanelli BM. (2011) Atlas de patología de los maxilares. España: Ripano.
- Marsh PD, Martin MV. (2011) Microbiología oral. 5a. ed. Gran Bretaña: Amolca.
- Negróni M. (2018) Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 3a. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Neville B. (2015) Oral and Maxillofacial Pathology. 4a ed. USA: Saunders Company.
- Nolte, WA.: (1986)Microbiología Odontológica. 3a. ed. México: Interamericana.
- Regezi J., Sciubba JJ, Jordan RCK. (2017) Oral pathology: Clinical pathologic correlations. 7a. ed. México: Interamericana.
- Sapp, J. Philip. (2005) Patología oral y maxilofacial contemporánea. 2a. ed. Madrid:Elsevier Harcourt.
- Scully C, Paes AO, Bagán J, Diz DP, Mosqueda TA.(2017) Oral medicine and pathology at a glance. USA: Wiley-Blackwell.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	78 /157

## Práctica No. 9

### ACCIÓN ANTIMICROBIANA DE ALGUNAS SOLUCIONES DE USO COMÚN EN LA PRÁCTICA ODONTOLÓGICA

#### OBJETIVO

Comparar la acción antimicrobiana de algunas soluciones de uso común en el consultorio dental.

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS

1. Conocimientos básicos de Microbiología.
2. Soluciones empleadas en la práctica y su uso terapéutico.
3. Indicaciones y contraindicaciones.
4. Concepto de desinfectante y antiséptico

#### FUNDAMENTO TEÓRICO

Los antisépticos y desinfectantes representan una opción en la prevención y control de las infecciones. Es importante señalar que la eficacia de la desinfección depende de la concentración de los ingredientes o agentes activos que contienen, tiempo y mecanismo de acción, pH, temperatura, la naturaleza y cantidad del microorganismo y la presencia de tejido vital y no vital.

El odontólogo emplea en su práctica clínica diferentes soluciones de uso cotidiano en concentraciones y dosis adecuadas, con fines terapéuticos y antisépticos, los cuáles actúan inhibiendo el crecimiento o la multiplicación bacteriana.

Dentro de las soluciones odontológicas utilizadas con mayor frecuencia mencionaremos las siguientes:

#### Eugenol

Es un líquido incoloro a amarillo claro derivado del fenol, que oscurece con el tiempo, constituye el principal componente del aceite de clavo, es poco soluble en agua, pero es soluble en alcohol, glicerina y disolventes orgánicos. En altas concentraciones tiene efecto bactericida, acción que se ha atribuido a los fenoles



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	79 /157

por degeneración de proteínas, lo que resulta en daño a la membrana celular. En bajas concentraciones tiende a estabilizar las membranas celulares, lo cual previene la penetración de las bacterias a los conductos dentarios.

Tiene propiedades anestésicas y sedativas por lo que es usado para aliviar los síntomas de pulpitis dolorosas, esta propiedad surge de su capacidad para bloquear la transmisión de los potenciales de acción en las fibras nerviosas.

Es quizás la solución más difundida y versátil de la terapéutica odontológica.

Es conocido como tóxico y capaz de producir trombosis de los vasos sanguíneos al ser aplicado directamente sobre el tejido pulpar.

Las acciones farmacológicas del eugenol, pueden afectar negativamente otras funciones importantes de algunas células del tejido dañado, lo que está muy relacionado con la forma en que se use.

A pesar de que su aplicación es común, el eugenol puede llegar a provocar lesiones cáusticas o quemaduras superficiales cuando es colocado en forma directa y en altas concentraciones en los tejidos blandos. La severidad del daño es proporcional al tiempo de exposición, a la dosis y a la concentración. Se ha visto que el eugenol puede llegar a mostrar tanto *in vivo* como *in vitro* diferentes tipos de toxicidad, tales como daño directo al tejido, dermatitis, reacciones alérgicas, disfunciones hepáticas, coagulación intravascular diseminada, hipoglicemia severa, e incluso la muerte por falla orgánica múltiple.

Es importante destacar que el eugenol nunca debe utilizarse solo y seguir las indicaciones del fabricante en cuanto a proporciones polvo líquido.

### **Peróxido de hidrógeno**

Es un líquido compuesto por hidrógeno y oxígeno de color azul claro que cuando es diluido en distintas concentraciones toma aspecto incoloro. Es un agente oxidante que reacciona cuando entra en contacto con materia orgánica, metales y soluciones alcalinas por producción de radicales libres hidroxilo que reaccionan con lípidos, proteínas y ADN.

Un mecanismo de acción antibacteriano de este compuesto es la liberación de oxígeno después de ser descompuesto por acción enzimática de la catalasa o enzimas similares; esta liberación de oxígeno tiene efecto tóxico sobre microorganismos anaerobios y, por lo tanto, su viabilidad disminuye.

Su acción antiséptica y antimicrobiana, aun cuando se considera de amplio espectro, es mayor para Gram positivos que para Gram negativos. También Incluye bacterias esporuladas, virus y levaduras.

La concentración en la cual es usada determina su efecto antiséptico, al ser bactericida entre el 3 y 6 %; esta concentración tiene bajo efecto sobre esporas y



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	80 /157

necesita tiempos de contacto más prolongados. Por el contrario, las soluciones de concentraciones altas (de 10 % a 30 %) han mostrado efecto rápido in vitro sobre esporas.

### Hipoclorito de sodio

Este irrigante es una sal formada por ácido hipocloroso (HOCl) e hidróxido de sodio (NaOH), muy soluble en agua y relativamente inestable; es usado como primera elección en los tratamientos de conductos radiculares, por sus propiedades antimicrobiana, antimicótica y antiviral, incluyendo el virus de la inmunodeficiencia humana.

En endodoncia se utilizan soluciones del 2% para la irrigación de conductos y a su gran actividad antiséptica se añade la liberación de oxígeno producida cuando se alterna con el peróxido de hidrógeno durante la irrigación.

Al igual que con otras soluciones, el hipoclorito se recomienda usarlo a menores concentraciones que las que se empleaban antes y la más recomendable es la solución acuosa al 1% por ser menos tóxica y mejor tolerada, ya que se ha demostrado que in vitro el hipoclorito de sodio al 5% es más destructivo para los tejidos vitales que para los microorganismos, mientras que el hipoclorito de sodio al 0.5% a 1% disuelve el tejido necrótico, pero no el tejido vital.

Para mezclar la concentración de solución desinfectante según el uso destinado, se debe utilizar la concentración de hipoclorito de sodio disponible en el país que está indicada en la etiqueta del envase.

O bien, para preparar la concentración deseada se debe utilizar la siguiente fórmula:

$$V1 = \frac{(V2) (C2)}{C1}$$

Donde

**V1:** Es el volumen que requerimos de la solución concentrada de cloro.

**V2:** Es el volumen de la solución final de cloro que deseamos preparar.

**C1:** Es la concentración de cloro que contiene la solución original (revisar la etiqueta del producto)

**C2:** Es la concentración de la solución final de cloro que queremos preparar.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	81 /157

Concentración de hipoclorito de sodio (según el fabricante)	100 ML DE HIPOCLORITO DE SODIO A LA CONCENTRACIÓN DE:					
	0,5 %		1%		2.5 %	
	Hipoclorito de sodio	Cantidad de agua	Hipoclorito de sodio	Cantidad de agua	Hipoclorito de sodio	Cantidad de agua
3 %	17 ml	83 ml	33 ml	67 ml	83 ml	17 ml
4 %	12.5 ml	87.5 ml	25 ml	75 ml	62.5 ml	37.5 ml
5 %	10 ml	90 ml	20 ml	80 ml	50 ml	50 ml
6 %	8	92 ml	17 ml	83 ml	42 ml	58 ml

Ejemplo:

Preparar 100 ml de solución de hipoclorito de sodio al 1%, a partir de una botella comercial que tiene una concentración de hipoclorito de sodio al 4 %.

$$V_1 = \frac{(100 \text{ ml}) (1\%)}{4\%} = 25 \text{ ml de hipoclorito de sodio al 4\%}$$

Por lo tanto, los 25 ml de hipoclorito de sodio al 4% se mezclarán con 75 ml de agua, obteniendo un volumen final de 100 ml.

### Hidróxido de calcio

Se presenta como un polvo blanco, alcalino, poco soluble en agua. Es un compuesto altamente inestable, puesto que al entrar en contacto con el dióxido de carbono regresa a su estado de carbonato de calcio. Por ello, se recomienda que sea almacenado en un frasco bien cerrado.

Se ha demostrado que actúa por disociación iónica y que su efecto antimicrobiano se debe a su elevado pH (12.8) y a la liberación de iones hidroxilo. La acción bactericida ha sido relacionada con la liberación de iones hidroxilo, los cuales son radicales altamente oxidantes, con una gran reactividad, lo que dificulta que puedan difundirse a sitios distantes. También se ha sugerido que tiene la capacidad de absorber el dióxido de carbono, lo que puede contribuir a su actividad antibacteriana.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	82 /157

Es una de las sustancias más ampliamente utilizadas en endodoncia desde su introducción por Hermann en 1920. Ha sido propuesto para un gran número de procedimientos, tales como: medicación intra-conducto, solución irrigadora, tratamiento de reabsorciones, cemento sellador, reparación de perforaciones, recubrimientos pulpaes, apexificación y apexogénesis. Estimula a los odontoblastos para la formación de dentina terciaria e induce el cierre de los ápices. No está indicado su uso en recubrimientos directos ya que provoca la calcificación de los accesos a conductos radiculares.

El Hidróxido de calcio tiene un alto poder bactericida y es tal vez la medicación más empleada en endodoncia como complemento de la preparación biomecánica. Su acción antiséptica se debe fundamentalmente a su alto pH, que hace incompatible el desarrollo bacteriano en su contacto. La acción del Hidróxido de calcio como medicamento intra-conducto puede ser explicada por la difusión de iones hidroxilos a través de la dentina, lo cual influye en el crecimiento y multiplicación bacteriana.

### Derivados Fenólicos

Los derivados fenólicos como el **Formocresol** y el **Paramonoclorofenol alcanforado** fueron utilizados ampliamente en la práctica odontológica.

**Actualmente su uso está contraindicado debido a que se han demostrado sus efectos carcinogénicos, hepatotóxicos y mutagénicos según la FDA.**

### Clorhexidina

Es el antiséptico estándar para la prevención de infecciones. Su forma más usada es el digluconato. Las concentraciones varían desde 0,003 %, en algunos enjuagues orales, hasta el 4 %, en jabones quirúrgicos. Como antiséptico oral, la clorhexidina tiene una mayor sustantividad que otros productos. Una vez se realiza un enjuague, aproximadamente el 30 % del compuesto se retiene en la cavidad oral, a través de interacciones electrostáticas con los grupos ácidos, sobre las macromoléculas de las secreciones mucosas que cuben las superficies orales.

A bajas concentraciones es bacteriostática y a altas es bactericida. Algunos microorganismos como el *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, *Enterococcus spp.*, y *Acinetobacter spp.* se han reportado como resistentes.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	83 /157

La clorhexidina tiene efecto contra bacterias grampositivas y gramnegativas, anaerobias facultativas, aerobias, hongos, levaduras y virus con envoltura. Se ha reportado que no es activa contra esporas ni contra micobacterias, ya que estas tienen una barrera impermeable que la clorhexidina no puede atravesar. Las agrupaciones bacterianas que forman biopelículas también pueden sobrevivir a sus efectos. Es eficiente en tratamientos periodontales, sus presentaciones comerciales son en gel y enjuagues bucales.

Vera y Col. (2012), mencionan que una desventaja de este irrigante, es la formación de un precipitado de color café-anaranjado altamente tóxico conocido como para-cloro-anilina cuando se combina con hipoclorito de sodio (carcinogénico) o cuando permanece en el conducto radicular por periodos de 14 días o más a 37° C.

### **Solución electrolizada de superoxidación con pH neutro al 0.0015%.**

Las soluciones electrolizadas de superoxidación (SES) tienen efecto antiséptico, desinfectante y esterilizante. Son desarrolladas a partir de agua común y sal a la cual se somete a corriente eléctrica generando diversos elementos como O, H y Cl.

Su mecanismo de acción se atribuye al efecto de oxidación de los grupos sulfhídrico y aminoácidos de la pared bacteriana, lo que afecta el proceso de respiración y nutrición microbianas, mediante oxidación de los componentes respiratorios, inhibición de la síntesis de proteínas, mientras que sobre los virus genera represión en la síntesis de RNA y ruptura del material genético.

Un estudio realizado por la Facultad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, reporta que esta solución tiene una nula capacidad antimicrobiana en contra de *E. faecalis* en los tiempos sugeridos por sus fabricantes. Existen otros estudios que han demostrado su ineficacia contra otras bacterias de cavidad oral.

## **MATERIAL Y REACTIVOS**

- Cepas: *Staphylococcus aureus*  
*Streptococcus mutans*  
*Escherichia coli*
- Medios de cultivo: 3 cajas con agar Mueller Hinton o Soya Trypticaseina



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	84 /157

- Material: 1 asa bacteriológica  
1 tubo con discos de papel filtro estéril  
Mechero de bunsen
- Soluciones: Eugenol  
Clorhexidina en solución al 0.12% o en gel al 0.2%  
Hipoclorito de sodio al 1%  
Hipoclorito de sodio al 2.5%  
Hipoclorito de sodio al 2% (comercial)  
Peróxido de hidrógeno comercial (11 vol.)  
Hidróxido de calcio + agua destilada  
Solución de superoxidación con pH neutro (Oxoral)  
Suero fisiológico
- Incubadora

#### SERVICIOS:

- Agua, luz, gas.

#### PROCEDIMIENTO

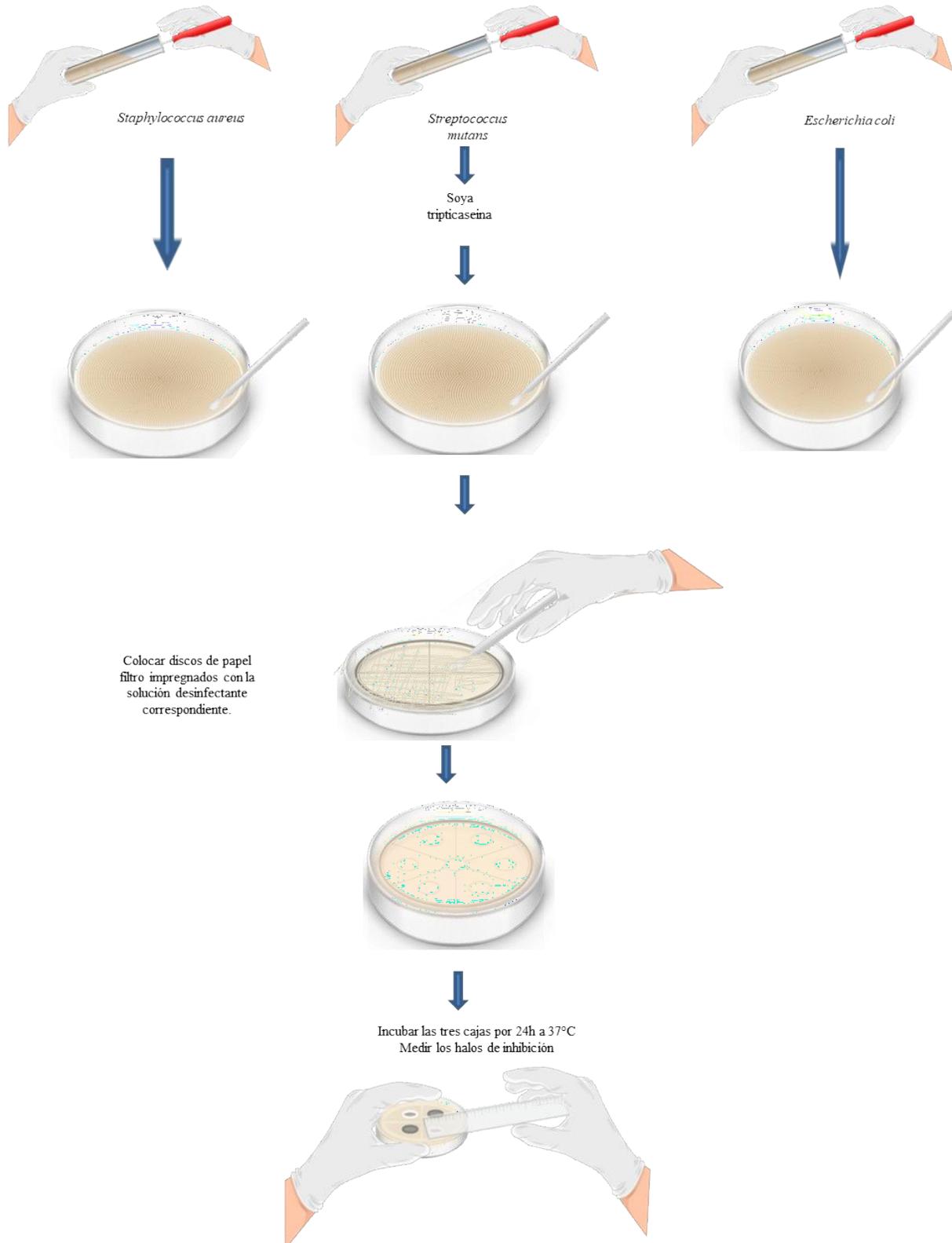
1. En una caja de agar Soya Trypticaseína sembrar masivamente con el asa bacteriológica la cepa *Staphylococcus aureus*.
2. Distribuir en la superficie del agar los discos de papel filtro humedecidos con cada una de las soluciones y etiquetar en la base de la caja con el nombre de la solución a la que corresponde cada uno.
3. Realizar el mismo procedimiento con otra caja agar Soya Trypticaseína sembrando masivamente con el asa bacteriológica la cepa *Streptococcus mutans*.
4. Realizar el mismo procedimiento con otra caja agar Soya Trypticaseína sembrando masivamente con el asa bacteriológica la cepa *Escherichia coli*.
5. Incubar las tres cajas durante 24 horas a 37° C.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	85 / 157





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	86 /157

## RESULTADOS

- Observar si hubo inhibición de crecimiento bacteriano, reportando la medida del diámetro del halo de inhibición en mm como se muestra en la imagen.



- Hacer la comparación entre las soluciones que inhibieron a los diferentes microorganismos en cada una de las cajas.

## CUESTIONARIO

1. Defina solución desinfectante
2. ¿Qué características ideales tiene el eugenol al mezclarse con el óxido de zinc para las bases cavitarias o curaciones temporales?
3. En base a sus resultados ¿qué solución o soluciones utilizaría para desinfectar conductos radiculares y por qué?
4. ¿Qué complejo se forma al mezclar clorhexidina e hipoclorito de sodio en conductos radiculares?
5. ¿Qué efectos tiene la intrusión de hipoclorito de sodio a los tejidos perirradiculares?

## BIBLIOGRAFÍA

- Bergenholtz, G. Horsted, BP. Reit, C. (2011). Endodoncia. El Manual Moderno.
- Burgos Zamorano, Francisca. (2013). Medicación intraconducto en Endodoncia. Postgrado en Endodoncia. Universidad de Valparaiso.
- Canalda, SC. (2014). Endodoncia: técnicas clínicas y bases científicas. España: Elsevier.
- Cohen, S. Hargreaves, KM. Berman, LH. (2011). Las vías de la pulpa. Estados Unidos: Elsevier.
- González, FRM. Molina, LJ. (2009). Microbiología bucal. México: Méndez editores.
- Hargreaves, K.M. Louis, H. (2016). Las vías de la pulpa. Estados Unidos: Elsevier.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	0	<b>87 /157</b>

Liébana, UJ.(2002). Microbiología oral. España: Mc Graw Hill-Interamericana.  
Marsh, PD. Martin, MV. (2011). Microbiología oral. Gran Bretaña: Amolca.  
Negroni, M. (2018). Microbiología estomatológica: fundamentos y guía  
práctica. Buenos Aires: Médica Panamericana.  
Soares, IJ. Goldberg, F. (2002). Endodoncia técnica y fundamentos. Buenos  
Aires: Editorial Médica Panamericana.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	88 /157

## Práctica No. 10 ANTIBIOGRAMA

### OBJETIVO

Conocer las indicaciones, características y usos del antibiograma, y el efecto de los antibióticos sobre los microorganismos Gram positivos y Gram negativos.

### CONOCIMIENTOS PREVIOS

- 1.- ¿Qué es un antibiótico?
- 2.- Defina inhibición bacteriana.
- 3.- Diferencias entre antiséptico y antimicrobiano.

### FUNDAMENTO TEÓRICO

El cambio constante de las patologías bucales aunada a la resistencia bacteriana ocasionada por el mal uso de los antibióticos ( automedicación), hace indispensable el uso de auxiliares de laboratorio como el antibiograma para atacar de una manera más efectiva las infecciones bacterianas, siendo esta prueba una guía para que el odontólogo seleccione el antibiótico ideal para cada paciente. Los antibiogramas son estudios que se realizan in vitro y que permiten determinar la resistencia o el grado de sensibilidad de los microorganismos frente a los diferentes antimicrobianos.

Las bacterias son naturalmente sensibles a algunos antimicrobianos y resistentes a otros (resistencia natural); sin embargo entre los microorganismos sensibles han aparecido cepas resistentes a antibióticos que eran activos (resistencia adquirida) por lo que al aislar a un microorganismo, no puede saberse si es sensible a un determinado antibiótico o si ha adquirido resistencia frente a él. Un antibiótico se considera activo frente a una bacteria cuando inhibe su multiplicación. Su actividad se evalúa in vitro determinando la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM).

Los fenómenos de transferencia genética y mutaciones en las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, dando lugar a cepas resistentes a uno o varios antimicrobianos, este fenómeno se ha incrementado tanto en la población general como en el ambiente hospitalario. Esto lleva a la necesidad de conocer la susceptibilidad de las cepas aisladas en los casos clínicos frente a los antimicrobianos disponibles, teniendo en consideración que tal patrón varía ampliamente, dependiendo del género, la especie y aún del sitio donde se aísla el microorganismo.

Las indicaciones para realizar un antibiograma son las siguientes:

- No se puede predecir la sensibilidad de un microorganismo.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	89 /157

- Como vigilancia epidemiológica para informar sobre la evolución de resistencias.
- En infecciones microbianas graves que comprometen seriamente la salud del paciente.
- Se desconoce la susceptibilidad del microorganismo aislado a los antimicrobianos de uso frecuente o común.
- El cuadro clínico no responde al tratamiento antimicrobiano clásico para esa enfermedad.
- Cuando aparecen problemas de resistencia a los antimicrobianos.

Un antibiograma indica únicamente resistencia o susceptibilidad de un microorganismo a los agentes antimicrobianos, en ningún momento será la base para indicar un medicamento, pues se deben tener en cuenta otros elementos antes de prescribir un producto, como:

- Reacciones adversas o de hipersensibilidad al producto.
- Vía de administración del medicamento, tomando en cuenta la edad del paciente y la gravedad del padecimiento.
- Costo del medicamento.
- Frecuencia de la ingesta del medicamento de acuerdo a la ocupación del paciente.
- También es importante conocer las reacciones adversas o secundarias del medicamento e indicárselas al paciente.

Al indicar un antibiograma, el laboratorio de análisis clínicos enviará los resultados con las siglas (R) resistente y (S) sensible, el antibiótico de elección será siempre el que tenga la sigla S, tomando en cuenta los criterios anteriormente mencionados y sobre todo el sentido común. Las técnicas que utiliza el laboratorio clínico para conocer la sensibilidad a los antibióticos son muy variadas, pero la más utilizada es la técnica de los multidiscos. Se venden preparados para microorganismos Gram positivos, Gram negativos y mixtos, con la cantidad exacta de los medicamentos a prueba para cada tipo de microorganismo, son de sencillo manejo y lectura fácil de realizar, solo se miden los milímetros de inhibición.

## MATERIAL Y REACTIVOS

### Cepas:

- *Staphylococcus aureus*
- *Klebsiella pneumoniae*



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	90 /157

**Medios de cultivo y reactivos:**

Dos cajas con agar Müller Hinton

Multidisco Gram positivo

Multidisco Gram negativo

**Material:**

Pinzas de curación

mechero

**SERVICIOS:** Agua, luz, gas.

**PROCEDIMIENTO**

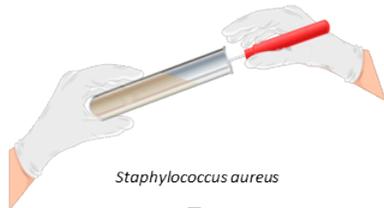
1. Sembrar masivamente una caja de agar Müller Hinton con *Staphylococcus aureus*.
2. Colocar con las pinzas flameadas un multidisco Gram positivo, cuidando que quede perfectamente adherido al medio.
3. Sembrar masivamente la otra caja de agar Müller Hinton con *Klebsiella pneumoniae*.
4. Colocar con las pinzas flameadas un multidisco Gram negativo, cuidando que quede perfectamente adherido al medio.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	91 /157



*Staphylococcus aureus*

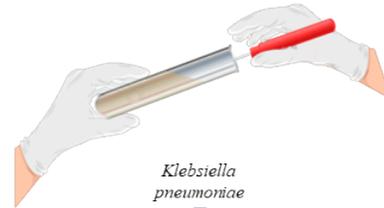
Agar Mueller Hinton



Siembra masiva



Colocar multidisco correspondiente:  
*Staphylococcus aureus*  
Grampositivos



*Klebsiella pneumoniae*

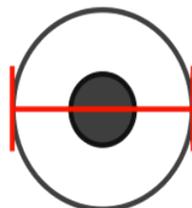
Agar Mueller Hinton



Colocar multidisco correspondiente:  
*Klebsiella pneumoniae*  
Gramnegativos

Incubar por 24h a 37°C

Observar los halos de inhibición del crecimiento y medir su diámetro en mm





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	92 /157

## RESULTADOS

- Medir los halos de inhibición en milímetros de cada antibiótico en cada caja de Gram positivos y de Gram negativos, identificar los antibióticos con mayor efecto inhibidor, menor efecto inhibidor y efecto medio inhibidor tomando en cuenta la información del fabricante.



- De los antibióticos de mediano efecto (que serían los de primera elección), buscar la información de cada uno de ellos (Nombres comerciales, presentaciones, vías de administración, indicaciones, contraindicaciones, reacciones adversas, etc.).

Esta prueba se fundamenta en que, al colocar el disco impregnado con determinada cantidad de antimicrobiano sobre un medio sólido inoculado con bacterias, el antimicrobiano difundirá formándose un gradiente de concentración, el cual inhibirá o permitirá el crecimiento de la bacteria. Una vez que se coloca el disco de papel filtro en contacto con el medio de cultivo, el antibiótico difundirá hacia el interior.

### **Contenido de los multidiscos:**

#### **Multidiscos\* Gram Positivos CAT.**

Cada multidisco contiene aproximadamente:

Ampicilina	AM	10µg
Cefalotina	CF	30µg
Cefotaxima	CTX	30µg
Ceftazidima	CAZ	30µg
Cefuroxima	CXM	30µg
Dicloxacilina	DC	1µg
Eritromicina	E	15µg
Gentamicina	GE	10µg
Pefloxacina	PEF	5µg
Penicilina	PE	10U
Tetraciclina	TE	30µg
Trimetoprim- Sulfametoxasol	SXT	25µg



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	93 /157

### **Multidiscos\* Gram Negativos CAT.**

Cada multidisco contiene aproximadamente:

Amikacina	AK	30µg
Ampicilina	AM	10µg
Carbenicilina	CB	100µg
Cefalotina	CF	30µg
Cefotaxima	CTX	30µg
Ceftriaxona	CRO	30µg
Cloranfenicol	CL	30µg
Gentamicina	GE	10µg
Netilmicina	NET	30µg
Nitrofurantoína	NF	300µg
Pefloxacina	PEF	5µg
Trimetoprim- Sulfametoxazol	SXT	25µg

### **CUESTIONARIO**

1. Diferencie entre antibiótico de amplio, mediano y reducido espectro.
2. Mencione las bases farmacológicas de 5 antibióticos indicados para microorganismos Gram positivos.
3. Mencione las bases farmacológicas de 5 antibióticos indicados para microorganismos Gram negativos.
4. Mencione los riesgos del uso indiscriminado de antibióticos.

### **BIBLIOGRAFÍA**

- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA.(2011) Microbiología médica. 25a. ed. México: Mc Graw Hill.
- Carroll ,K.C ; Morse S.A; Mietzner, T,A; Miller, S. (2016) Microbiología médica : 27a ed. México Mc Graw Hill.
- Espinosa MMT.(2012) Farmacología y terapéutica en odontología. México: Medica panamericana
- González FRM, Molina LJ. (2009) Microbiología bucal. 4a. ed. México: Méndez editores.
- Liébana UJ.(2002) Microbiología oral. 2a. ed. España: Mc Graw Hill-Interamericana.
- Marsh PD, Martin MV. (2011) Microbiología oral. 5a. ed. Gran Bretaña: Amolca.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	<b>0</b>	<b>94 /157</b>

Negrón M.(2018) Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 3ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Nolte WA. Microbiología odontológica. México: Interamericana;1986.

Ruiz G, Fernández A. (2013) Fundamentos de farmacología básica y clínica. 2ª. ed. Médica panamericana.

Slots J, Taubman MA, Yankell S.(1992) Contemporary oral microbiology and immunology. 3ª ed. Saint Louis: Mosby.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	95 /157

## Práctica No. 11

### MECANISMOS DE DEFENSA INESPECÍFICOS EN CAVIDAD BUCAL

#### OBJETIVO

Identificar los diferentes mecanismos de defensa inespecíficos del organismo humano, haciendo énfasis en la fagocitosis y lisozima que están presentes en la cavidad bucal.

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS

- 1.- ¿Qué es el sistema inmunitario?
- 2.- Concepto de respuesta inmunitaria
- 3.- Clasificación de respuesta inmunitaria
- 4.- Factores que modifican la inmunidad
- 5.- Fases de la fagocitosis

#### FUNDAMENTO TEÓRICO

Los seres humanos están defendiendo su integridad biológica frente a las agresiones esencialmente externas a través de un conjunto de elementos especiales conocido como respuesta inmune, de no ser así, podrían morir como consecuencia de infecciones por bacterias, virus, hongos, etc. Cabe mencionar que la capacidad de defensa se adquiere antes de nacer y se madura en los primeros años de vida.

Los mecanismos de defensa se dividen en dos grupos:

1. **Inespecíficos:** se denominan así porque actúan contra cualquier agente extraño sin distinguir su tipo, es la primera barrera de defensa y su función es impedir la penetración de los agentes patógenos al interior del cuerpo. Estos se encuentran en la piel, conjuntiva y mucosas de los aparatos digestivo, respiratorio y genitourinario.
2. **Específicos:** constituyen la segunda línea de defensa y esta actúa una vez que los microorganismos han logrado penetrar a la intimidad de los tejidos, su función será eliminar a los agentes patógenos y bloquear los efectos de las sustancias tóxicas que producen.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	96 /157

Los mecanismos de defensa inespecíficos en cavidad bucal se clasifican en:

- A. FÍSICOS O MECÁNICOS
- B. BIOQUÍMICOS
- C. BIOLÓGICOS

#### A. FÍSICOS O MECÁNICOS

- **Barrera física de la mucosa**

La mucosa bucal se encuentra revestida por un epitelio de tipo escamoso estratificado queratinizado el cual impide la penetración bacteriana debido a su permeabilidad selectiva, la continua descamación y la secreción constante de saliva.

La descamación y regeneración continua del epitelio contribuye a disminuir la posibilidad de penetración e infección de diversos microorganismos. El surco gingival y la unión dentogingival son las zonas que se reparan más rápido renovándose aproximadamente cada 4 ó 6 días.

- **Autoclisis**

La saliva junto con el movimiento de lengua y carrillos permite un arrastre mecánico que coadyuva a limpiar la cavidad bucal impidiendo la adherencia y proliferación bacteriana.

- **Flujo salival**

Es un mecanismo de protección que impide la entrada de microorganismos a los conductos de las glándulas salivales. La disminución del flujo salival conduce produce una mayor incidencia de caris dental e infecciones de las glándulas salivales.

- **Esmalte**

Es un tejido mineralizado acelular que cubre la corona del diente considerado el tejido más duro de todo el organismo, ya que del 96 al 98% de su masa es hidroxapatita cálcica. La integridad del esmalte depende de la conservación del equilibrio entre las fases de desmineralización y remineralización, lo cual se considera como la única forma natural de mantener los dientes sanos y fuertes, generando con esto un impacto muy importante en la prevención de la caries dental.

#### B. BIOQUÍMICOS

- **Lisozima o muramidasa**

Se encuentra en todas las secreciones de nuestro cuerpo como son saliva, lágrima, sudor, secreción nasal, intestinal, bronquial, etc. En cavidad bucal es secretada por las glándulas



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	97 /157

parótida, submandibular y sublingual así como por monocitos, esta enzima actúa a nivel de la pared celular rompiendo los enlaces glucosídicos beta 1-4 que une el ácido N-acetil murámico y la N-acetil glucosamina del mucopéptido bacteriano de casi todas las bacterias Gram positivas. La lisozima debilita la pared celular y deja vulnerables a las bacterias para su muerte por lisis osmótica. En estudios se ha observado que en la gingivitis y la enfermedad periodontal los niveles de lisozima se encuentran elevados.

- **Lactoperoxidasa**

Se encuentra presente en saliva y leche, su mecanismo es similar al de la peroxidasa presente en los neutrófilos, es decir, que en presencia de peróxido tiene acción antimicrobiana.

- **Lactoferrina**

Esta enzima se encuentra en la leche materna y en cavidad bucal, su función es atrapar iones de hierro lo cual ocasiona que no haya crecimiento bacteriano, ya que la bacteria lo necesita como cofactor de sus propias enzimas.

- **Fibronectina**

Es una proteína que se encuentra en las superficies de las células epiteliales de la orofaringe y su función es cubrir los receptores epiteliales, impidiendo así la adherencia bacteriana.

- **pH salival**

Se encuentra en un rango de 6-8, siendo un limitante del crecimiento bacteriano, ya que los microorganismos se desarrollan a diferentes pH.

## C. BIOLÓGICOS

- **Fagocitosis**

Es el proceso mediante el cual los leucocitos entran en contacto, engloban, ingieren y destruyen microorganismos y otras partículas extrañas. Se ha observado que la fagocitosis en cavidad bucal se lleva a cabo en el surco gingival por neutrófilos y macrófagos que se encuentran en gran cantidad en el fluido gingival crevicular.

- **Complemento**

El sistema de complemento es un amplificador de la respuesta inmune formado por una serie de proteínas plasmáticas que reaccionan en forma de cascada. Estas proteínas al activarse favorecen la fagocitosis, activan la respuesta inflamatoria y se unen a las células invasoras para provocar su lisis.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	98 /157

- **Microbiota bucal**

Existen relaciones ecológicas microbianas como el antagonismo donde un microorganismo produce sustancias que inhiben al otro, así como la competencia la cual se da por nutrientes y espacio; estas son importantes para el huésped porque regulan la población microbiana, por ejemplo: las bacterias de la flora comensal producen algunas sustancias llamadas bacteriocinas que inhiben o destruyen a otras bacterias, contribuyendo así al antagonismo.

## **MATERIAL Y REACTIVOS**

### **Cepa:**

*Micrococcus lysodeikticus*

### **Medio de cultivo:**

1 caja agar soya tripticasa

### **Material y equipo:**

1 mechero  
1 tubo con 8 discos de papel filtro estéril  
1 tubo con solución salina estéril  
1 pinza de curación  
1 asa bacteriológica  
1 preparación fija de fagocitosis

**SERVICIOS:** Agua, luz y gas.

## **PROCEDIMIENTO**

### **A) FAGOCITOSIS**

Observar al microscopio la preparación fija de fagocitosis en el objetivo de inmersión.

## **LISOZIMA**

1.- Sembrar masivamente la caja agar soya tripticasa con *Micrococcus lysodeikticus*.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	99 /157

2.- Colocar sobre la caja sembrada los discos de papel filtro impregnados con las siguientes secreciones y solución:

- a) Lágrima
- b) Saliva
- c) Sudor
- d) Secreción nasal
- e) Solución salina

3.- Incubar a 37° C durante 24 horas.

## RESULTADOS

1. Identificar en el microscopio las diferentes etapas de la fagocitosis, y el tipo de leucocito que la está llevando a cabo.
2. Medir los halos de inhibición de cada una de las secreciones y solución utilizada. Realizar una tabla comparativa e identificar en cual secreción hay mayor concentración de lisozima.

## CUESTIONARIO

- 1.- ¿Qué otros mecanismos de defensa inespecíficos pueden encontrarse en saliva?
- 2.- ¿Qué probabilidades de desarrollar caries dental presenta un individuo cuya capacidad buffer salival sea alta y por qué?
- 3.- Explique la importancia de la fagocitosis como mecanismo de defensa inespecífico.
- 4.- Explique la importancia de los mecanismos de defensa inespecíficos.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	100 /157

## BIBLIOGRAFÍA

- Delves P., Martin S., Burton D., Roitt I. (2014). *Inmunología: fundamentos (12ª ed.)*. Médica panamericana.
- Fainboin L., Geffner J. (2011). *Introducción a la inmunología humana (6ª ed.)*. Médica panamericana.
- Goldsby R. A., Kindt Thomas J., Osborne B. Kuby J. (2007). *Inmunología (6ª ed.)*. Mc Graw Hill.
- Parslow T, Stites D, Abba T, Imboden D.J. (2002). *Inmunología básica y clínica (10ª ed.)*. Manual moderno.
- Regueiro G.J.R, López L.C. (2010). *Inmunología, biología y patología del sistema inmunitario (4ª ed.)*. Médica panamericana S.A.
- Rojas EO. (2006). *Inmunología (de memoria)*. Médica panamericana.
- Rojas O, Arce-Paredes P. (2003). *Fagocitosis mecanismos y consecuencias, primera parte*. Medigraphic, 28: pp. 20-24.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	101 /157

**Práctica No. 12**  
**REACCIONES DE PRECIPITACIÓN EN CAPILAR**

**OBJETIVO**

Conocer una de las reacciones antígeno-anticuerpo y relacionar este evento, con las diferentes formas que tiene el cuerpo humano y la cavidad bucal para defenderse.

**CONOCIMIENTOS PREVIOS**

1. ¿Cuáles son los mecanismos de defensa inespecíficos de cavidad bucal?
2. Defina antígeno y anticuerpo
3. Defina reacción de precipitación

**FUNDAMENTO TEÓRICO**

Desde el momento del nacimiento, el hombre está expuesto a un sin número de contactos o ataques de bacterias, hongos, virus y/o parásitos, de los cuales debe defenderse, ya sea mediante mecanismos de defensa inespecíficos, que son eficaces contra una gran variedad de microorganismos o por mecanismos de defensa específicos, los cuales son efectivos contra determinados agentes agresores. Para todo aquel que se dedica a la salud, es de suma importancia conocer cómo nuestro cuerpo reaccionará ante cualquier tipo de agresión ya sea mecánica, física, química o microbiana. Un microorganismo necesita entrar en los tejidos del huésped para infectarle. El cuerpo humano tiene un gran número de barreras que lo protegen contra la entrada de este tipo de agresores.

Los mecanismos de defensa dependerán estrechamente de la herencia, edad, sexo, raza, nutrición, hormonas, etc. protegiendo a nuestro cuerpo contra infecciones determinadas como resultado de su capacidad de defenderse contra un agente causal, ya sea de forma activa o pasiva.

Dentro de esta capacidad de defender al cuerpo tenemos a la **inmunidad activa**, que es permanente o de larga duración y ocurre de manera natural cuando se padece la enfermedad o infección, creando en nuestro cuerpo una memoria que se conserva y actúa cuando exista un nuevo contacto con el mismo microorganismo que ocasionó la primera infección. En este tipo de inmunidad activa, también se encuentra la artificial, que se obtiene mediante el uso de vacunas, y que prepara al cuerpo para reconocer al agente agresor y atacarlo sin padecer la enfermedad.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	102 /157

Ambos tipos de inmunidad activa (natural o artificial) son específicos ya que tienen en común la producción de anticuerpos o inmunoglobulinas, que son aquellas sustancias que produce el organismo como respuesta a un antígeno y que solamente pueden reconocer, atacar y destruir al antígeno (bacteria, hongo, parásito, virus, agente extraño, toxina, entre otros) para el cual fue creado.

La **inmunidad pasiva**, también se divide en natural y artificial, esta es temporal y se obtiene dando o proporcionando los anticuerpos ya formados en otro organismo, por ejemplo, de la natural se encuentra el calostro (leche materna) y de la artificial tenemos como ejemplo, los antisueros contra venenos.

Cuando un antígeno y un anticuerpo se encuentran, reaccionan de diferente manera y dependiendo del estado y características de cada uno de ellos pueden ocasionar reacciones de:

- a) Precipitación
- b) Aglutinación
- c) Floculación
- d) Neutralización

Las reacciones de precipitación se presentan cuando el antígeno (Ag) es multivalente y el anticuerpo (Ac) bivalente y específico, ambos deben ser solubles y dan como resultado la formación de un complejo insoluble.

Esta reacción se utiliza en el laboratorio para demostrar, cuantificar antígenos y/o anticuerpos, puede ser en medio líquido o semisólido.

La precipitación en capilar se realiza en un medio líquido y en tubos capilares, mezclando antígenos multivalentes con anticuerpos bivalentes, ambos en solución, donde pueden combinarse formando redes tridimensionales que se agregan y precipitan. Esta es una prueba semicuantitativa o cuantitativa, ya sea midiendo los precipitados resultantes o analizando los sobrenadantes resultantes de la reacción en la búsqueda de antígenos o anticuerpos libres.

Cuando la cantidad de anticuerpo se encuentra en forma constante y el antígeno se va diluyendo, el precipitado que resultará de la reacción se mide en milímetros; cuando se grafican estos resultados, se puede observar una curva, a la que se le llama curva de precipitación en la cual se pueden diferenciar tres zonas (gráfica1):



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



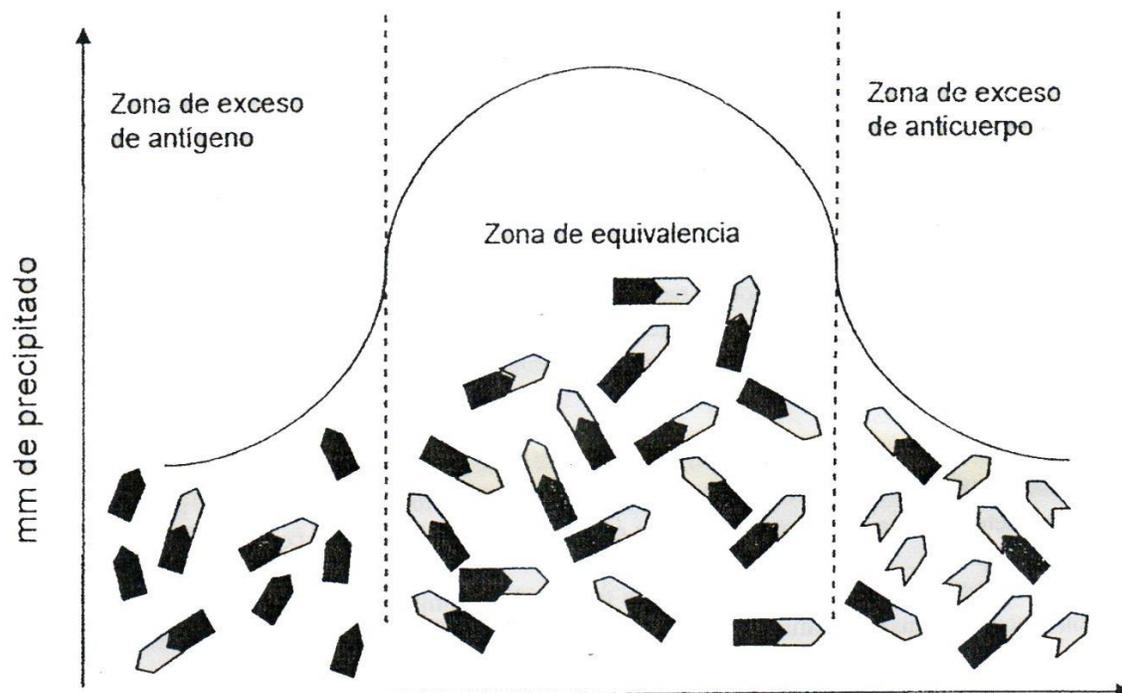
Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	103 /157

**Exceso de antígeno:** Llamado también prozona, todos los anticuerpos están combinados, pero la precipitación es baja debido a que gran parte de los complejos antígeno- anticuerpo son pequeños y solubles, tienden a disolverse, la cantidad de precipitado es también menor a la de equivalencia, en el sobrenadante se encuentran antígenos libres.

**Equivalencia:** se encuentran en proporciones iguales las cantidades de antígeno y anticuerpo por lo que se observa un máximo precipitado, el sobrenadante no contiene ni antígenos ni anticuerpos libres.

**Exceso de anticuerpo:** Los anticuerpos se encuentran en mayor proporción para una formación eficiente de precipitado, los complejos formados son insolubles y permiten una estimación de la valencia del antígeno, la precipitación es inferior a la de equivalencia, en el sobrenadante se encuentran anticuerpos libres.

GRÁFICA 1. CURVA DE PRECIPITACIÓN EN CAPILAR





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	104 /157

## MATERIAL Y REACTIVOS

- 11 Tubos capilares
- 9 tubos de ensaye de 13 x 100 en gradilla
- 3 pipetas de 1ml graduadas en décimas
- 1 barra de plastilina
- 1 tubo de ensaye con Suero Bovino Total (SBT) (Antígeno)
- 1 tubo de ensaye con Antisuero Bovino Total (ASBT) (Anticuerpo)
- Solución salina
- Papel absorbente
- 1 mechero

Equipo

- Centrífuga

**SERVICIOS:** Luz, agua

## PROCEDIMIENTO

1. Tomar once tubos capilares y dividirlos en cuatro partes iguales por medio de una regla y un marcador.
2. En 9 tubos de ensaye 13 x 100 previamente etiquetados, colocar 0.5 ml de solución salina.
3. Agregar 0.5 ml de suero bovino total (SBT) al tubo número 1 mezclándolo perfectamente.
4. Tomar 0.5 ml del tubo número 1 y colocarlos en el número 2, mezclar.
5. Tomar 0.5 ml del tubo 2 y transferirlos al tubo 3, mezclar y repetir del 3 al 4 y así hasta el tubo número 9.
6. Absorber con un tubo capilar por capilaridad antisuero bovino total (ASBT) hasta la primera marca que realizó.
7. Girar el tubo capilar a 180° y dejar que el ASBT baje o descienda hasta el borde contrario de donde se absorbió.
8. Tapar con el dedo el extremo superior del capilar (como si fuese una pipeta) introducir el capilar en el tubo de ensaye número 1, retirar el dedo y permitir que suba por capilaridad el suero hasta la segunda marca del capilar.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	105 /157

9. Colocar el tubo en forma horizontal y realizar movimientos giratorios para mezclar el suero y el antisuero en el capilar.
10. Colocar el líquido en el centro del capilar
11. Acercar a la flama del mechero cuidadosamente, evitando sobre calentar el líquido, uno de los extremos del capilar girándolo hasta sellar el vidrio sin excederse.
12. Etiquetar el tubo capilar con el número 1 y clavarlo en la barra de plastilina.
13. Realizar el mismo procedimiento con cada uno de los tubos capilares, cambiando de dilución.
14. Llenar el tubo capilar 10 hasta la segunda marca con antisuero bovino total (testigo).
15. Llenar el tubo capilar 11 hasta la segunda marca con suero bovino total (testigo).
16. Dejar la barra de plastilina a temperatura ambiente por unos minutos y después en refrigeración 24 a 48 horas.
17. Centrifugar los tubos capilares a 1000 rpm durante 1 minuto y medir el precipitado.

## RESULTADOS

- Realizar una tabla como la siguiente:

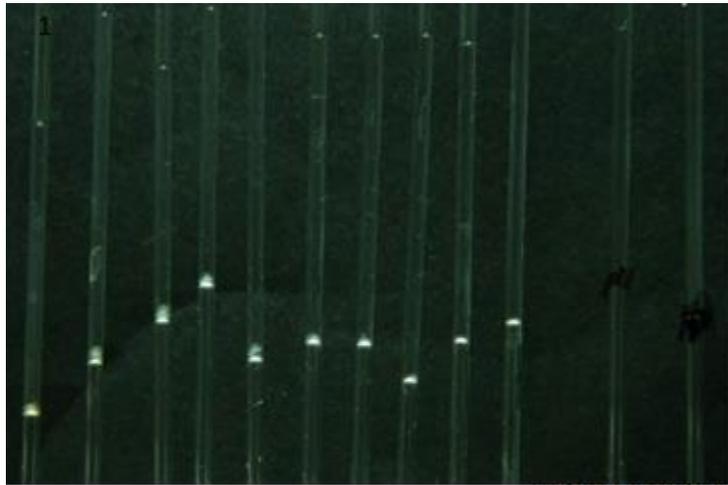
Tubo capilar No.	Dilución	mm. de precipitado
1	1:2	
2	1:4	
3	1:8	
4	1:16	
5	1:32	
6	1:64	
7	1:128	
8	1:256	
9	1:512	
10	Testigo	
11	Testigo	



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	106 /157



antígeno anticuerpo

Curva de precipitación, manteniendo el anticuerpo constante y concentraciones diferentes del antígeno.

Medir con regla el precipitado de cada tubo capilar anotando el resultado en el cuadro superior.

- Graficar en papel milimétrico los resultados, teniendo en cuenta que para fines didácticos, en esta ocasión el suero bovino funcionará como Antígeno y el antisuero bovino total será el anticuerpo, coloque en el eje de las abscisas de su gráfica la dilución de suero 1:2, 1:4, 1:8 etc, y en el eje de las ordenadas la cantidad de precipitado en milímetros.
- Los tubos capilares testigos 10 y 11 se graficarán en cada uno de los extremos, tomándolos como cero mm de precipitado.
- Identifique cada una de las zonas de su curva de precipitación.

## CUESTIONARIO

1. Explique las características que debe tener el antígeno y el anticuerpo para que se dé una reacción de precipitación.
2. Explique qué es una reacción antígeno anticuerpo.
3. Mencione a qué tipo de mecanismo de defensa pertenecen las reacciones antígeno anticuerpo
4. ¿Qué células son las encargadas de formar los anticuerpos?
5. ¿Qué importancia tiene este mecanismo de defensa en cavidad bucal?



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	<b>0</b>	<b>107 /157</b>

## BIBLIOGRAFÍA

- Abbas A.K., Lichtman A.H. y Pober J.S. (2004). Inmunología celular y Molecular. 5ª ed. España: Elsevier.
- Fainboim, L., Geffner, J. (2011). Introducción a la Inmunología humana. Argentina: Médica Panamericana.
- Male D, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. (2004). Inmunología. 9a. ed. España: Elsevier.
- Parslow T, Stites D, Abba T, Imboden DJ. (2002). Inmunología básica y clínica. 10ª Ed. México: Manual Moderno.
- Spicer WJ. (2009). Microbiología clínica y enfermedades infecciosas. 1ª edición- España. Elsevier.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	108 /157

### Práctica No. 13

## REACCIÓN DE PRECIPITACIÓN EN GEL (Ouchterlony)

### OBJETIVO

Demostrar la reacción antígeno-anticuerpo, y su utilidad como mecanismo de defensa en la reacción de precipitación, utilizando una prueba cualitativa inmunológica de laboratorio.

### CONOCIMIENTOS PREVIOS

1. Definición de antígeno y anticuerpo.
2. Características de un antígeno y un anticuerpo para que se lleve a cabo una reacción de precipitación.
3. Clasificación de inmunoglobulinas.

### FUNDAMENTO TEÓRICO

Las técnicas inmunológicas se utilizan para detectar, identificar y cuantificar antígenos y anticuerpos en muestras clínicas. La especificidad de la interacción antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) y la sensibilidad de muchas de las técnicas inmunológicas las convierten en unas poderosas herramientas de laboratorio.

Los complejos Ag-Ac se pueden detectar directamente por técnicas de precipitación o marcando el anticuerpo con elementos radiactivos, enzimas, fluorocromos o indirectamente por la medición de una reacción dirigida por el anticuerpo como la fijación del complemento.

La técnica de inmunodifusión doble de Ouchterlony se aplica para determinar las relaciones existentes entre diferentes antígenos. En esta técnica se colocan soluciones de antígeno y anticuerpo en pocillos separados en agar. La doble difusión se lleva a cabo



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	109 /157

al colocar los pozos de antígeno y anticuerpo en diversos ángulos, los cuales difunden a través del agar en forma radial, estableciéndose los gradientes de concentración de cada sustancia, las cuales al encontrarse forman un precipitado que se observa como una línea opaca en la región donde se encuentran en proporciones equivalentes. Basándose en este patrón de líneas de precipitación, esta técnica también se emplea para determinar si las muestras son idénticas (identidad total), si comparten algún epítopo, pero no todos (identidad parcial), o bien, si se trata de muestras diferentes (no identidad).

Si una preparación contiene varios antígenos se dará lugar a líneas múltiples, debido a que no todas las moléculas ya sean de antígeno o de anticuerpo difunden con la misma velocidad.

Las tres modalidades características básicas de estas reacciones se mencionan a continuación (Figura 13-1):

- I. **Reacción de identidad total:** se observa una línea de confluencia entre dos antígenos que son iguales en términos del antisuero utilizado.
- II. **Reacción de no identidad:** se observan líneas de cruzamiento formadas por antígenos no relacionados.
- III. **Reacción de identidad parcial:** se observa la formación de una espícula por antígenos parcialmente relacionados que tienen un determinante común.

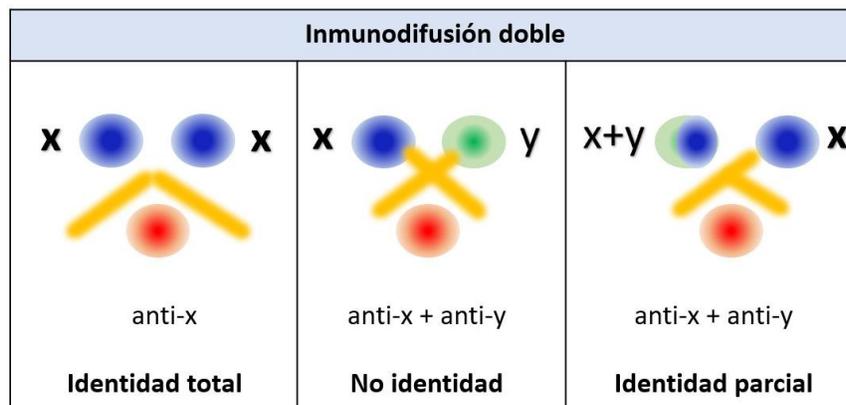


Figura 13-1 Reacción de precipitación



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	110 /157

La doble difusión en agar se puede utilizar para análisis semicuantitativo en sistemas serológicos humanos, donde la especificidad de las líneas de precipitación ya ha sido determinada. Son pruebas que se utilizan para evaluar la respuesta humoral frente a la infección y los antecedentes de exposición a agentes infecciosos de un individuo.

Frecuentemente se usa la inmunodifusión doble para la detección de anticuerpos o antígenos nucleares extraíbles en pacientes con varias enfermedades del tejido conjuntivo. Este método ha comprobado ser una técnica confiable para su detección.

### TEORÍA DE LA FORMACIÓN DE REDES

Se ha considerado una teoría para la reacción de precipitación que es la formación de redes entre Ag y Ac. Para que se lleve a cabo una reacción de precipitación el antígeno debe de ser multivalente, para el crecimiento de los agregados Ag-Ac de tal manera que cada molécula de antígeno se una a más de un anticuerpo y que cada molécula de anticuerpo se una a más de una molécula de antígeno.

### MATERIAL Y REACTIVOS

- 1 portaobjetos con ion agar (Oxoid)
- 1 caja de petri
- 1 aplicador de madera
- 1 pipeta Pasteur
- Papel filtro
- **Solución de antígenos:**
  - Suero bovino total (SBT)
  - Albúmina bovina
  - Gammaglobulina bovina
  - Ovoalbúmina



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	111 /157

- **Solución de anticuerpos**

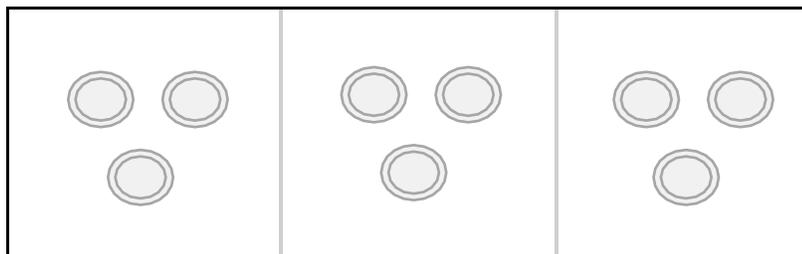
- antisuero bovino total (ASBT)
- antigamaglobulina bovina + antiwoalbúmina

**SERVICIOS**

Agua, luz

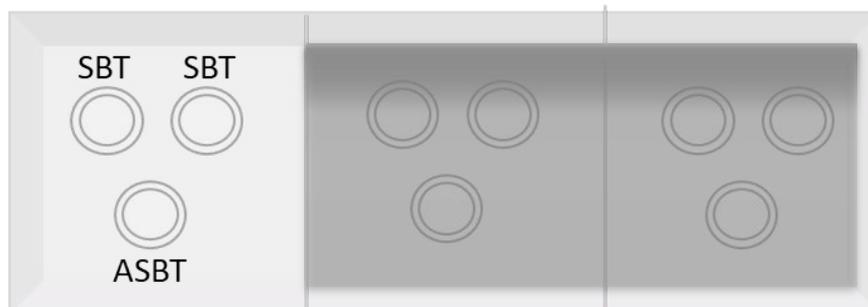
**PROCEDIMIENTO**

1. Realizar tres series con tres perforaciones en el agar, de forma que quede un pozo en cada vértice, formando un triángulo equilátero (como lo muestra el esquema):



2. Con la ayuda de un tubo capilar llenar los pozos con el antígeno o el anticuerpo que indique el profesor.

- 2.1 En la primera serie de pozos colocar SBT en los dos pozos superiores y en el pozo de abajo colocar ASBT.



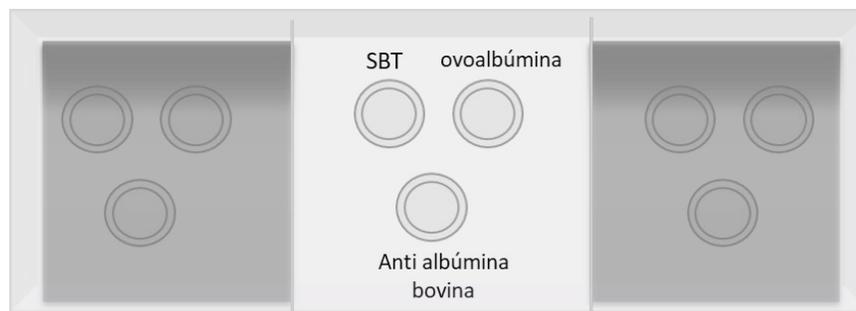


SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO

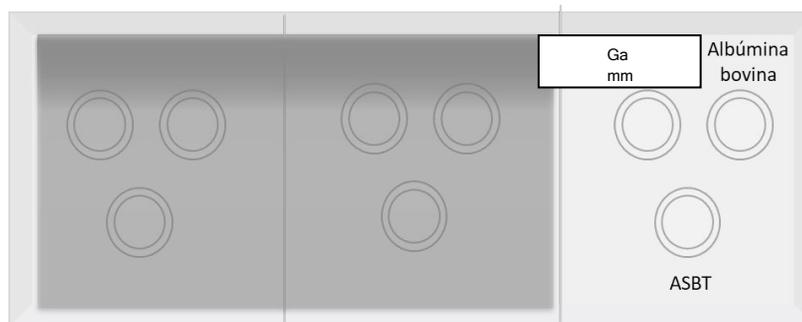


Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	112 /157

2.2 En la segunda serie de pozos colocar en el primer pozo SBT y en el segundo pozo colocar ovoalbúmina, en el pozo de abajo colocar anti albúmina bovina.



2.3 En la tercera serie de pozos colocar en el primer pozo (SBT), en el segundo pozo colocar albúmina bovina y en el pozo de abajo colocar anti suero bovino total (ASBT).



3. Improvisar una cámara húmeda con una caja de Petri, colocando papel humedecido con agua en la base y en la tapa.
4. Se colocan los portaobjetos preparados en la cámara húmeda sobre el aplicador de madera.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	113 /157

5. Se incuba a temperatura ambiente durante 24 a 48 horas y se buscan bandas de precipitación.

## RESULTADOS

Tomar cuidadosamente el portaobjetos y observar hacia la luz cada sistema de pozos, identificando las bandas de precipitación.

Hacer un esquema del portaobjetos con los pozos señalando donde se colocó el antígeno y el anticuerpo de acuerdo con las instrucciones de su profesor y dibujar las bandas de precipitación que se observen.

Identificar el tipo de reacción que se observó (identidad total, no identidad o identidad parcial).



Ejemplo de como se observa una banda de precipitación



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	114 /157

## CUESTIONARIO

1. Mencione las ventajas observadas que tiene el método de precipitación en gel sobre la precipitación en capilar.
2. Explique qué aplicaciones tiene el método de precipitación en gel.
3. ¿Cuáles son las características que debe tener un antígeno y un anticuerpo para que se lleve a cabo una reacción de precipitación?
4. ¿Qué aplicación tiene esta prueba en su práctica odontológica?

## BIBLIOGRAFIA

- Delves, P. Martin, S. Burton, D. Roitt, I. (2014). Inmunología: fundamentos. Médica Panamericana.
- Fainboin, L. Geffner, J. (2011). Introducción a la inmunología. Médica panamericana.
- Goldsby, RA. Kindt, T.J. Osborne, BA. (2007). Inmunología de Kuby. España: Mc Graw Hill.
- Murray, P. Rosenthal, K. Pfaller, M.(2017). Microbiología médica. Barcelona: ELSEVIER.
- Parslow, T. Stites, D. Abba, T. Imboden, DJ. (2002). Inmunología básica y clínica. México: Manual Moderno.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	115 /157

## Práctica No. 14

### REACCIONES DE AGLUTINACIÓN

#### OBJETIVO

Conocer la importancia de las reacciones de aglutinación en diferentes pruebas de laboratorio, particularmente en la determinación del grupo sanguíneo.

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS

- 1) Concepto de aglutinación
- 2) Tipos de reacción de aglutinación

#### FUNDAMENTO TEORICO

La reacción antígeno-anticuerpo forma parte de los mecanismos de defensa específicos del cuerpo humano. El estudio detallado de este proceso ha generado conocimiento con numerosas aplicaciones clínicas, ya que nos ayuda a identificar la presencia o ausencia de hormonas, antígenos, anticuerpos, enzimas, células, etc. en diferentes fluidos (sangre, orina, saliva, etc.). Los análisis de laboratorio basados en la interacción antígeno-anticuerpo son importantes en el diagnóstico de enfermedades, evaluación de tratamientos y el seguimiento de procesos fisiológicos normales; ejemplo de lo anterior, son las pruebas para detectar la infección con el VIH o las pruebas de embarazo. Las reacciones de aglutinación son la base de numerosas técnicas empleadas en laboratorios clínicos y de investigación.

La reacción de aglutinación es la interacción *in vitro* de un anticuerpo (aglutinina) con un antígeno (aglutinógeno), este último localizado en la superficie de una célula o partícula, generalmente este proceso es visible a simple vista, por lo que no es necesario un microscopio (Figura 14.1). Las reacciones de aglutinación se clasifican en dos tipos:

- a) **Agglutinación directa:** esta reacción se lleva a cabo cuando de manera natural una célula o partícula insoluble presenta en su superficie uno o más antígenos que reaccionan con anticuerpos específicos. Por lo tanto, células, bacterias y hongos pueden ser aglutinados fácilmente por los anticuerpos, debido a que en su superficie



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	116 /157

presentan numerosos antígenos. Ejemplo de lo anterior, son las pruebas para determinar el grupo sanguíneo.

**b) Aglutinación indirecta o pasiva:** esta reacción sucede cuando la superficie de células o partículas inertes se recubren artificialmente con el antígeno de interés. Generalmente se emplean eritrocitos o partículas de látex, las cuales actúan como soporte pasivo del antígeno. Este tipo de aglutinación es útil para determinar la presencia y la cantidad de anticuerpos (título de anticuerpos) en diferentes fluidos del cuerpo. Esta metodología se emplea para determinar el factor reumatoide, prueba de embarazo y anticuerpos anti-DNA. Es importante mencionar, que la partícula de látex, también puede ser recubierta con un anticuerpo de interés, las partículas sensibilizadas con anticuerpos sirven para detectar la presencia de algún antígeno en los diferentes fluidos biológicos. En este caso la técnica se denomina **aglutinación pasiva inversa**.

Por otra parte, los eritrocitos también pueden ser aglutinados por ciertos virus o bacterias. Esta reacción de **hemaglutinación** puede inhibirse de manera específica en presencia de anticuerpos dirigidos contra estos microorganismos (ensayo de inhibición de la hemaglutinación). Estas técnicas sirven para determinar la concentración relativa (título) de virus y anticuerpos.

Como ya se mencionó la determinación de grupos sanguíneos es un ejemplo de la reacción de aglutinación directa, la prueba identifica la presencia o ausencia de antígenos característicos de los glóbulos rojos de la sangre. De acuerdo a la distribución de los isoantígenos A y B en los eritrocitos, la sangre de toda persona queda incluida entre los cuatro grupos denominados A, B, AB y O, según tengan un antígeno (A o B), o los dos (AB) o carezcan de ellos (O). Los grupos sanguíneos fueron descubiertos por Karl Landsteiner en 1901, lo que permitió establecer los criterios de compatibilidad sanguínea entre humanos. Aunado a lo anterior, en 1940 Landsteiner y Wiener determinaron la existencia de otro antígeno, el factor Rh, denominado así debido a que también se encuentra en la sangre del mono Rhesus. Las personas que presentan el factor Rh son Rh positivos (+) y los que no lo poseen son Rh negativos (-). Lo anterior resalta la importancia



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	117 /157

de la reacción de aglutinación *in vitro*, gracias a ella podemos determinar el tipo de sangre de todas las personas, lo cual es fundamental al momento de realizar una transfusión sanguínea para evitar una reacción de hemólisis, que puede culminar con la muerte del paciente.

Los antígenos del sistema ABO, son los más antígenicos y por ello son importantes en medicina transfusional. Generalmente, las personas poseen anticuerpos naturales, contra los antígenos, que no están presentes en sus propios eritrocitos, por ello durante una transfusión de sangre incompatible se pueden observar reacciones adversas e incluso fatales. Ejemplo de lo anterior es la reacción de hemólisis inducida por la transfusión de sangre incompatible, lo que ocurre a nivel intravascular y es inmediata; se produce hipotensión, fiebre, coagulación intravascular diseminada, falla renal y muerte. Debido a lo anterior, es vital determinar la compatibilidad de los grupos sanguíneos antes de realizar una transfusión.

A diferencia de lo que ocurre con el sistema ABO, no existen isoanticuerpos contra el antígeno Rh. Sin embargo, si una persona Rh negativa recibe eritrocitos Rh positivos, reaccionará y sintetizará anticuerpos contra el factor Rh. Esto es peligroso cuando una mujer Rh negativa se embaraza y su esposo es Rh positivo. En caso de que el feto sea Rh positivo y su sangre tenga contacto con la circulación materna, la madre, producirá anticuerpos contra el factor Rh presente en los eritrocitos fetales. Estos anticuerpos serán del tipo IgG, los cuales pueden cruzar la barrera placentaria, reaccionar con los eritrocitos fetales e inducir una enfermedad hemolítica conocida como eritroblastosis fetal. Generalmente el primer hijo no sufre peligro alguno. Sin embargo, si en la mujer ocurre una respuesta inmune primaria al antígeno Rh en el momento del parto, puede generar una respuesta inmune secundaria contra el siguiente feto Rh positivo, los anticuerpos anti-Rh cruzarán la placenta y destruirán los eritrocitos del producto. Para evitar esta complicación se utiliza el hecho de que un exceso de anticuerpo inyectado contra los eritrocitos Rh positivos reaccionará con ellos y los destruirá, y así evitará que en la madre se produzca una reacción primaria contra el factor Rh. Este procedimiento se realiza sistemáticamente en el momento del parto de mujeres Rh negativas con bebés Rh positivos.

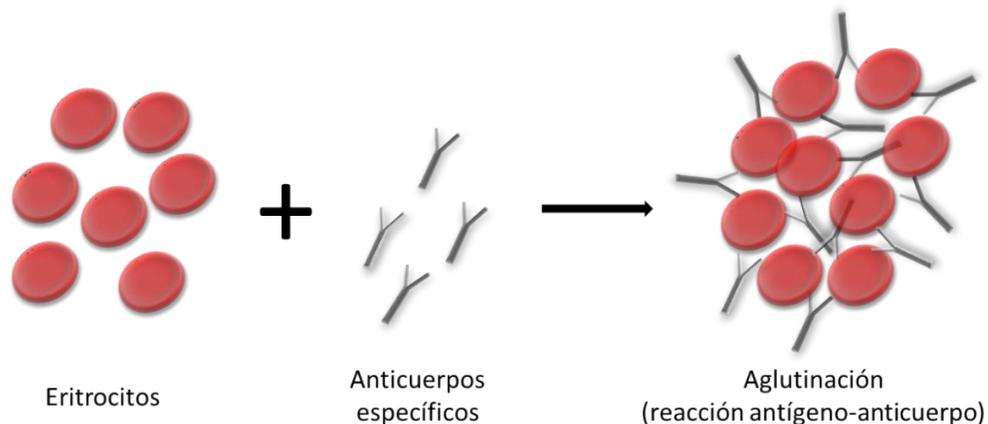


SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	118 /157

La determinación de los grupos sanguíneo se realiza mediante una reacción *in vitro* de aglutinación, en la cual sucede una reacción inmunológica entre los eritrocitos presentes en una gota de sangre y los anticuerpos específicos dirigidos contra el antígeno A (suero anti-A), antígeno B (suero anti-B) o antígeno D (suero anti-D o anti-Rh). La presencia o ausencia de aglutinación, determinará el tipo de sangre.



**Figura 14.1 Reacción de aglutinación.** Los anticuerpos específicos reaccionan con los antígenos presentes en la superficie de los eritrocitos, lo anterior provoca que los glóbulos rojos se agrupen y formen grumos fácilmente visibles (Fuente: Dra. Marta Elena Castro Manrreza).

## MATERIAL Y REACTIVOS POR EQUIPO

2 lancetas estériles

2 portaobjetos

2 aplicadores de madera

2 torundas con alcohol



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	119 /157

## MATERIAL Y REACTIVOS POR GRUPO

1 frasco de suero hemotipificador “A”

1 frasco de suero homotipificador “B”

1 frasco de suero hemotipificador Rh o D

**SERVICIOS:** Luz, agua.

## PROCEDIMIENTO

- 1) Limpiar el área (dedo) con una torunda impregnada con alcohol.
- 2) Puncionar con una lanceta estéril y colocar en un portaobjetos limpio, tres gotas de sangre separadas.
- 3) En la primera gota de sangre colocar una gota de suero anti-A, en la segunda gota de sangre agregar una gota de suero anti-B, y en la última, una gota de suero anti-D.
- 4) Inmediatamente mezclar con un aplicador de madera, cuidando que no haya contacto entre cada gota de sangre.

## RESULTADOS

Dibuja o fotografía tus resultados, con base en las siguientes observaciones:

1. La presencia de grumos en la mezcla en un lapso de minutos, indica la unión antígeno-anticuerpo (prueba positiva)
2. La ausencia de grumos indica que no existe reacción de aglutinación (prueba negativa).
3. Se observará en que mezcla hubo aglutinación, reportando como grupo sanguíneo “**A**” si hubo aglutinación en el suero anti-A, grupo sanguíneo “**B**” si hubo aglutinación con el suero anti-B, grupo sanguíneo “**AB**” si aglutina en ambos sueros y grupo sanguíneo “**O**” si no hay aglutinación.
4. Si aglutina con el suero anti-D, Rh positivo, si no aglutina Rh negativo.
5. Realizar un cuadro de todos los grupos sanguíneos observados en el grupo



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	120 /157

Determinación de grupos sanguíneos y Rh.  
Sueros grupos sanguíneos.

	A	B	AB	O	Rh+	Rh-
Anti-A						
Anti-B						
Anti-A y Anti-B						
Anti-Rh						

Aglutinación. No aglutinación.

### CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es la importancia de conocer nuestro tipo de sangre?
2. ¿Cuándo se requieren y cuál es la función de las pruebas cruzadas?
3. Explique la diferencia entre reacción de aglutinación, precipitación y neutralización.
4. Investigue en que consiste la prueba a de Coombs directa e indirecta

### BIBLIOGRAFÍA

Jawetz E, Melnick J, Adelberg E: (2011) microbiología médica. 25a. ed. México: McGraw Hill Interamericana editores.

Parslow T, Stites D, Abba T, Imboden DJ. (2002) Inmunología básica y clínica. 10a. ed. México: Manual Moderno.

Rojas E. (2006) Inmunología (de memoria). 3a. ed. Médica Panamericana.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	121 /157

## Práctica No. 15

### FIJACION DE COMPLEMENTO

#### OBJETIVO

Analizar la importancia del sistema de complemento como mecanismo de defensa, haciendo énfasis en cavidad bucal.

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS

1. Definición de complemento
2. Vías de activación del complemento
3. Clasificación de las inmunoglobulinas
4. Definir los conceptos de normobiosis y disbiosis

#### FUNDAMENTO TEORICO

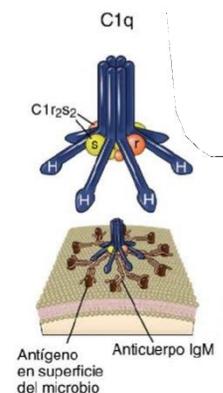
El complemento es uno de los mecanismos más importantes de la respuesta inmune innata, es un sistema de proteínas circulantes y de membrana importantes en la defensa contra múltiples microorganismos que puedan ingresar a nuestro cuerpo, las cuales constituyen aproximadamente del 10% al 15% de las proteínas séricas.

El complemento está constituido por más de 30 proteínas, muchos de sus componentes son enzimas proteolíticas o proteasas, que circulan en formas funcionalmente inactivas conocidas como zimógenos. Estas proteínas son sintetizadas principalmente por el hígado, aunque también por otras células como macrófagos, células endoteliales, adipocitos, etc. Es un mecanismo de defensa específico cuando es activado por anticuerpos y un mecanismo inespecífico cuando es activado por algunos microorganismos.

Se conocen tres vías de activación: **la vía clásica, la vía alterna y la de la lectina.**

**La vía clásica**, llamada así porque se descubrió en primer lugar, usa una proteína plasmática llamada C1q para detectar anticuerpos unidos a la superficie de un microorganismo u otra estructura. Una vez que C1q se une a la porción Fc

de los anticuerpos, dos serina proteasas asociadas, llamadas C1r y C1s, se activan e inician una cascada proteolítica que afecta a otras proteínas del complemento.





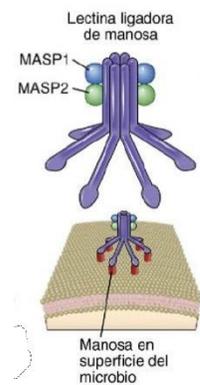
SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



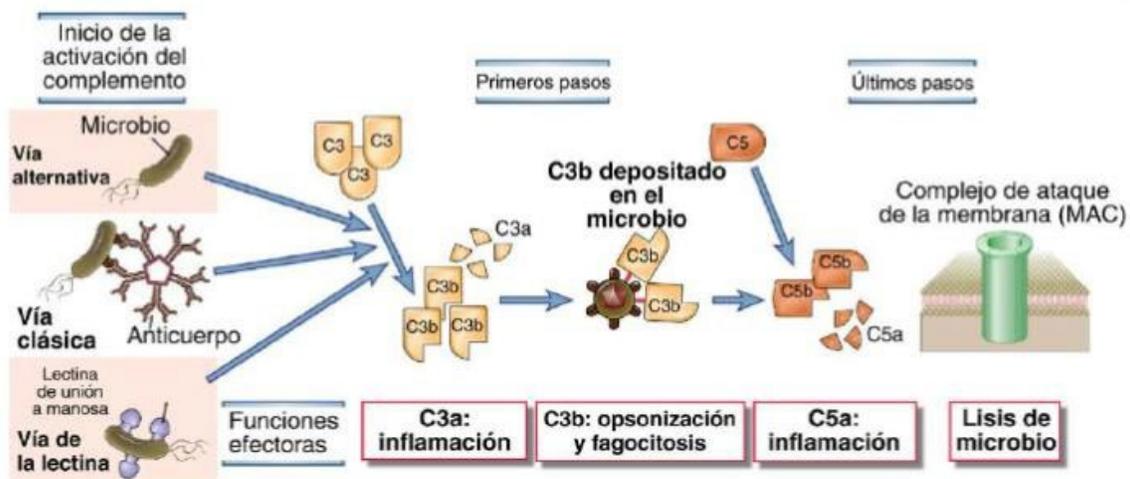
Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	122 /157

La **vía alternativa**, que se descubrió después, pero que es más antigua en la evolución filogenética que la vía clásica, se desencadena cuando una proteína del complemento llamada C3 reconoce directamente ciertas estructuras de la superficie microbiana, como el LPS bacteriano.

La **vía de la lectina**, la desencadena una proteína plasmática llamada lectina ligadora de manosa (MBL, del inglés mannose-binding lectin), que reconoce manosas terminales en glucoproteínas y glucolípidos microbianos. La MBL es una estructura hexamérica similar al componente C1q del sistema del complemento. Después de que la MBL se une a los microbios, dos zimógenos llamados MASP1 (serina proteasa 1 asociada a la manosa, o serina proteasa asociada a la lectina ligadora de manano) y MASP2, con funciones similares a C1r y C1s, se asocian a la MBL e inician los pasos proteolíticos consiguientes idénticos a la vía clásica.



La activación del sistema del complemento pueden iniciarla tres vías distintas que conducen a la producción de C3b (los primeros pasos). El C3b inicia los pasos tardíos de activación del complemento, que culminan en la producción de péptidos que estimulan la inflamación (C5a) y en el C9 polimerizado, que forma el complejo de ataque de la membrana, llamado así porque crea agujeros en la membrana plasmática.



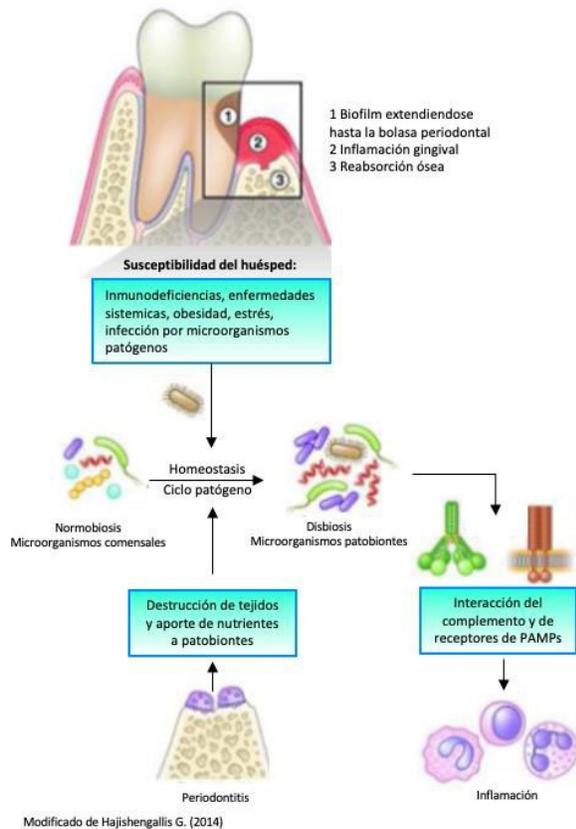


SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	123 /157

### Complemento y salud periodontal



La salud periodontal requiere un estado inflamatorio controlado que pueda mantener la homeostasis huésped-microorganismo en el periodonto. Sin embargo, los defectos en el estado inmunoinflamatorio del huésped o las condiciones predisponentes y los factores ambientales pueden cambiar el equilibrio hacia la disbiosis, un estado en el que los excomensales se comportan como patobiontes proinflamatorios. De manera similar, la presencia de patógenos clave puede inclinar la balanza hacia la disbiosis. La inflamación causada por la microbiota disbiótica depende, entre otros factores, de la activación del complemento y la activación de algunos receptores que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) que activan a los polimorfonucleares y tiene dos efectos principales e interrelacionados: provoca la destrucción inflamatoria del tejido periodontal (incluida la pérdida ósea, el sello distintivo de la periodontitis) que a su vez

proporciona nutrientes (péptidos de degradación de tejidos y otros productos) que promueven aún más la disbiosis y, por tanto, la destrucción de tejidos, generando así un ciclo patógeno que se perpetúa a sí mismo.

#### **Actividades biológicas del complemento:**

- 1.- Incremento en la permeabilidad vascular.
- 2.- Anafilatoxinas
- 3.- Quimiotaxis
- 4.- Oponización y endocitosis
- 5.- Adherencia inmune
- 6.- Lisis reactiva



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	124 /157

En la prueba de fijación de complemento se usan dos sistemas de reactivos además del suero. Al primer sistema le llamamos sistema problema y al segundo sistema indicador, constituido por una suspensión de eritrocitos sensibilizados con hemolisina.

### **MATERIAL Y REACTIVOS**

Hemolisina 2 U. 100 % hemolíticas

Complemento 2 U. 100 % hemolíticas (suero)

Zymosan 10 mg/ml.

Glóbulos rojos de carnero al 1% en TBS

Solución salina amortiguada de trietanolamina TBS fría

4 pipetas de 1 ml.

3 tubos de 13x100

1 gradilla

### **Equipo:**

Centrífuga

**SERVICIOS:** Luz, agua



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	125 /157

### PROCEDIMIENTO

- Colocar en una gradilla 3 tubos de ensaye de 13x100 previamente etiquetados.
- Colocar en cada tubo los siguientes reactivos de acuerdo con la tabla de desarrollo

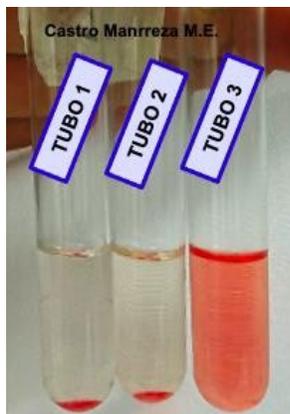
TUBO	ZYMOZAN ml.	SUERO ml.	I N C U B A R 37° C  15 min	GRC ml.	HEMOLISINA ml.	I N C U B A R  37°C 15 min.	BS FRIO ml.	C E N T R I F U G A R **
1	0.25	—			0.25		0.25	
2	0.25	0.25		0.25	0.25		1.0	
3	—	0.25		0.25	0.25		1.25	

Tabla de desarrollo \*\* centrifugar a 1500 rpm durante 1 minuto después de agregar el TBS.

### RESULTADOS

Observar en que tubos hay lisis y en cuales no hay lisis de eritrocitos.

Cuando hay lisis el liquido se observa con coloración rojiza (ruptura de eritocitos), cuando no hay lisis el liquido se observa transparente y con un boton rojo en la base del tubo.



Tubo 1: Control negativo de activación del complemento ya que no contiene suero (no hay lisis).

Tubo 2: Se activa el complemento por via alterna por acción del zymosan y dependiendo de la cantidad de complemento en suero puede o no presentar lisis.

Tubo 3: Debido a la ausencia del zymosan se activa el complemento por la via clasica y se observara lisis.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	126 /157

## CUESTIONARIO

- 1.- ¿Qué vía del complemento se activa con mayor frecuencia en cavidad bucal?
- 2.- ¿Qué moléculas presentes en los microorganismos de la cavidad bucal pueden desencadenar la activación del complemento por la vía alterna y por vía clásica?
- 3.- Diga a que se le conoce como lisis reactiva.
- 4.- Realice un cuadro de las inmunoglobulinas que activan cada una de las vías del complemento.

## BIBLIOGRAFIA

- Abbas, Abul K., et al. Inmunología celular y molecular (8a. ed.), Elsevier Health Sciences Spain - T, 2015. ProQuest Ebook Central, <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliodgbsp/detail.action?docID=3429504>.
- Hajishengallis G. (2014). Patogénesis inmunomicrobiana de la periodontitis: piedras angulares, patobiontes y respuesta del huésped. Tendencias en inmunología , 35 (1), 3-11. <https://doi.org/10.1016/j.it.2013.09.001>
- Delves P, Martin S, Burton D, Roitt I. (2014) Inmunología: fundamentos. 12a. ed. Médica panamericana.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E: (2011) microbiología médica. 25a. ed. México: McGraw Hill Interamericana editores.
- Murphy k. Travers P, Walport M.( 2010) Inmunología de Janeway. 7ª. Ed. México: Mc Graw Hill- Interamericana.
- Parham P. (2011) El sistema Inmune. 3ª ed. México: Manual Moderno.
- Parslow T, Stites D, Abba T, Imboden DJ. (2002) Inmunología básica y clínica. 10ª ed. México: Manual Moderno.
- Roja E. (2006) Inmunología (de memoria).3a. ed. México: Panamericana.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	127 /157

## Práctica No. 16 CHOQUE ANAFILÁCTICO

### OBJETIVO

Analizar las reacciones de hipersensibilidad haciendo énfasis en el choque anafiláctico.

### CONOCIMIENTOS PREVIOS

1. Defina hipersensibilidad.
2. Mencione la clasificación de hipersensibilidad de acuerdo a Gell y Coombs.
3. Mencione que inmunoglobulina interviene en la reacción de hipersensibilidad Tipo I.
4. Qué células intervienen en esta reacción.

### FUNDAMENTO TEÓRICO

Toda respuesta inmunológica (normal o patológica), requiere de una fase de sensibilización, que siempre es silenciosa. Durante esta fase, las células presentadoras de antígenos procesan los antígenos propios o extraños y los presentan a los linfocitos T CD4. Estos linfocitos serán los encargados de dirigir el tipo de respuesta inmune, ya sea de tipo celular o humoral contra este antígeno, en forma silente, pudiendo concluir en una defensa exitosa o exagerada que cause daño orgánico en la persona.

El choque anafiláctico representa la manifestación más grave de la anafilaxia y es el resultado de la liberación dependiente de inmunoglobulina E (IgE), de mediadores químicos de los mastocitos y basófilos (histamina, sustancia de reacción lenta de la anafilaxia, prostaglandinas, leucotrienos, etc). Clínicamente se manifiesta con piel fría, pálida y sudorosa, venas subcutáneas colapsadas, hipotensión, taquicardia, oliguria o anuria, relajación de esfínteres y pérdida de la conciencia hasta llegar al paro cardíaco.

De acuerdo con la clasificación de Gell y Coombs, esta respuesta corresponde a un mecanismo de daño mediado por linfocitos Th2 e IgE, también conocida como respuesta de hipersensibilidad inmediata. Durante la fase de sensibilización, se sintetiza IgE contra alérgenos, la cual se adosará a

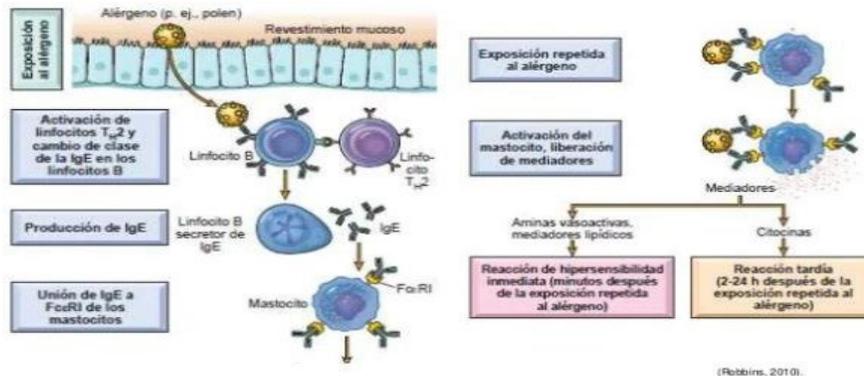
sus receptores en la superficie de mastocitos. Cuando el nivel de IgE en los mastocitos alcance un nivel crítico, la siguiente exposición al alérgeno originará un entrecruzamiento de los receptores de IgE en los mastocitos, que llevará a su degranulación. Son las sustancias liberadas durante este proceso, las responsables de síntomas y signos como el broncoespasmo, los estornudos, la rinorrea, la congestión nasal, urticaria y angioedema, cólicos abdominales, diarrea, hipotensión y en los casos más graves, la muerte.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	128 /157



Existen diversas sustancias que pueden desencadenar esta reacción como son:

- Medicamentos (anestésicos, antibióticos, analgésicos, vitaminas, etc.)
- Alimentos (huevo, leche, marisco, etc.)
- Insectos (picadura de insectos como abejas, arañas, etc.)
- Productos de la naturaleza (polen, polvo, pelos de animales, plumas de aves, látex, etc.)

Y también intervienen otros factores como:

- Características genéticas.
- Propiedades moleculares de los alérgenos.
- Contaminación ambiental.
- Edad.
- Estilo de vida

Es importante mencionar que medicamentos, compuestos químicos o sustancias de origen natural pueden desencadenar una reacción tipo I, como es el caso del látex. El cual proviene del árbol *Hevea brasiliensis*, contiene alrededor de 250 proteínas y unas 50 son potencialmente alergénicas.

Algunas de ellas pueden tener epítopos comunes con ciertos vegetales y frutas tropicales, que pueden ser responsables de reacciones cruzadas hasta en el 50% de los casos. El látex pasó a ser la cuarta causa de reacciones anafilácticas intraoperatorias.

Por lo anterior es muy importante interrogar al paciente y saber si ha manifestado algún tipo de evidencia alergológica al acudir a su consulta dental y anexarla en el expediente clínico (historia clínica).



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	0	<b>129 /157</b>

**Clasificación de Hipersensibilidad ( Gell y Coombs)**

Clasificación	Hipersensibilidad	Tiempo
Inmediata	Tipo I	Menos de 5 minutos
Mediata	Tipo II y III	De 30 minutos a 1 hora
Tardía	Tipo IV	De 24 a 72 horas Hasta 28 días

Tipo de reacción	Manifestación	Mecanismo
I	Reacciones de hipersensibilidad inmediata (anafilaxia)	IgE, células cebadas y basófilos
II	Anticuerpos citotóxicos	IgM e IgG
III	Complejos antígeno-anticuerpo	IgM, IgG, células fagocíticas, linfocitos NK, y componentes de complemento
IV	Hipersensibilidad tardía mediada por células	Linfocitos T sensibilizados



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	<b>0</b>	<b>130 /157</b>

Manifestaciones clínicas de la anafilaxia

Órgano o sistema involucrado	Signos y síntomas dominantes
1. Cardiovascular	Taquicardia, arritmias, hipotensión, colapso vascular, paro (Infarto de miocardio).
2. Respiratorio	Estornudos, rinorrea, ronquera, disfonía, estridor laríngeo, sensación de cerrazón de garganta, edema de vías aéreas superiores (lengua, úvula, paladar blando, faringe, laringe) taquipnea, broncoespasmo, apnea, asfixia.
3. Piel	Prurito palmo-plantar inicial y luego generalizado, eritema, urticaria, angioedema.
4. Gastrointestinal	Náusea, vómitos, cólicos, dolor abdominal, deposiciones acuosas o sanguíneas, incontinencia urinaria.
5. Genitourinario	Cólicos uterinos, incontinencia urinaria.
6. Nervioso	Convulsiones sensación de “muerte inminente”, pérdida de la conciencia.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	131 /157

### Tratamiento de choque anafiláctico en el consultorio dental

1. Llamar al 911 y solicitar una ambulancia.
2. Aplicar epinefrina acuosa (1 mg/1 ml = 1/1.000) I.M (repetir la dosis a los 15 o 30 minutos si es necesario).
3. Localizar vena y canalizarla con alguna solución (Hartmann, glucosada al 5%, solución salina, entre otras.)
4. Colocar al paciente en posición de Trendelenburg.
5. Si tenemos oxígeno aplicarlo al paciente 3 Lts.
6. Administrar antihistamínico I.V.
7. Administrar corticoesteroides I.V.
8. Administrar broncodilatadores I.V o inhalados si hay conciencia.
9. Trasladar al paciente en ambulancia a un centro hospitalario, para su control.

### MATERIAL POR GRUPO

#### Video grabación:

Observa y analiza cuidadosamente el video en donde se representa un evento de choque anafiláctico y toma el tiempo que transcurre entre la aplicación del anestésico y la aparición de signos y síntomas.

#### SERVICIOS:

Luz

Cañón

PC portátil



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	132 /157

## RESULTADOS

Discutir la importancia del diagnóstico oportuno de choque anafiláctico y las formas de prevenir estos eventos en el consultorio dental con el apoyo de una buena historia clínica y un correcto manejo de la farmacología para casos de emergencia (botiquín de urgencias NOM-013-SSA2-2015).

## CUESTIONARIO

1. ¿Qué sustancias y materiales del consultorio dental pueden desencadenar un choque anafiláctico?
2. ¿Qué mediadores químicos se liberan en esta reacción y que órgano o sistema ataca cada uno de ellos?
3. ¿Qué medicamentos deben existir en el botiquín de urgencias del consultorio dental (nombre comercial y genérico)?
4. ¿Cuáles son las dosis de cada medicamento utilizado en caso de choque en niños y en adultos?
5. ¿Cuál es el órgano diana en el choque anafiláctico?

## BIBLIOGRAFÍA

Arce May. (2010). Inmunología e inmunopatología oral. México: Manual Moderno.

Dewachter P, (2019). Anaesthetic management of patients with pre-existing allergic conditions: a narrative review. Br J Anaesth;123: e65-e81. <https://doi.org/10.1016/j.bja.01.020>

Johansson SGO, Bliieber T, Dahl R et al. (2003). Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October. J Allergy Clin Immunol 203; 113: 832-6. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2003.12.591>

Johansson, SGO, Hourihan JO, Bousquet J et al.(2001). EAACI (the European Academy of Allergology and Clinical Immunology) nomenclature task force A revised nomenclature



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	0	<b>133 /157</b>

for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. Allergy; 56: 813-24. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2001.t01-1-00001.x>

Murphy k. (2010) Inmunología de Janeway. 7a. ed. México: Mc Graw Hill- Interamericana.

Parslow T, Stites D, Abba. (2002) Inmunología básica y clínica. 10a. ed. México: Manual Moderno.

Regueiro GJR, Lopez LC. (2010) Inmunología, biología y patología del sistema inmunitario. 4a. ed. Médica Panamericana S.A.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	134 /157

**Práctica No. 17**  
**ANTIESTREPTOLISINAS**

**OBJETIVO**

Analizar la actividad protectora de los anticuerpos antiestreptolisina O.

**CONOCIMIENTOS PREVIOS.**

1. Enfermedades sistémicas por los estreptococos.
2. Toxinas de importancia odontológica que producen los estreptococos.
3. ¿Qué son las antiestreptolisinas?

**FUNDAMENTO TEÓRICO**

Los estreptococos son cocos Grampositivos, y producen varios tipos de enzimas extracelulares y toxinas, como: estreptoquinasa, estreptodornasa, estreptolisinas S y O, toxina eritrogénica, proteinasas, hialuronidasa, amilasa y esterases. Estas originan algunas enfermedades como: fiebre reumática, faringitis, impétigo, meningitis, glomerulonefritis, fiebre puerperal, septicemia, endocarditis subaguda y caries.

La fiebre reumática (FR) es una enfermedad inflamatoria sistémica, caracterizada por la existencia de lesiones que afectan al corazón, articulaciones, sistema nervioso central, piel y tejido celular subcutáneo, como secuela de una infección faríngea por estreptococo betahemolítico del grupo A

(*S. pyogenes*). Ciertas cepas de estreptococos del grupo A contienen antígenos en la membrana celular que dan reacción cruzada con los antígenos del tejido cardiaco humano, iniciándose el daño con afectación de las válvulas de dicho órgano.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	135 /157

El inicio de la fiebre reumática va precedido a menudo por infección estreptocócica del grupo A, de una a cuatro semanas antes. Esta enfermedad presenta una marcada tendencia a ser reactivada por infecciones estreptocócicas recurrentes.

Los sueros de pacientes con fiebre reumática contienen anticuerpos contra estos antígenos, las principales características inmunológicas: presencia de anticuerpos circulantes dirigidos a los tejidos cardiacos por una reacción cruzada inducida por la presencia de *Streptococcus pyogenes* y depósito de inmunoglobulinas y de complemento en los tejidos valvulares y el miocardio.

La enfermedad habitualmente ocurre en niños entre 5 y 15 años. Sólo se presenta después de infecciones bucofaríngeas estreptocócicas repetidas y por lo general, no está asociada con las infecciones estreptocócicas de la piel.

Cuando existe daño de las válvulas cardiacas o el paciente es portador de prótesis valvulares, se requiere profilaxis antibiótica para tratamientos invasivos como protección contra una posible endocarditis bacteriana subaguda que puede ser resultado de una bacteriemia.

Para realizar el diagnóstico, se debe apoyar en la sintomatología; y en pruebas auxiliares de laboratorio, como es la prueba de cuantificación de antiestreptolisinas, exudado faríngeo, proteína C reactiva, VSG (velocidad de sedimentación globular) y factor reumatoide.

Los criterios de Jones para el diagnóstico de la fiebre reumática son útiles. La presencia de dos criterios mayores o de un criterio mayor y de dos criterios menores, junto con la evidencia sintomática y de laboratorio de infección reciente por estreptococos, es altamente sugestiva de fiebre reumática.

La corea de Sydenham es diagnóstico de fiebre reumática en ausencia de cualquiera de otros criterios mayores o menores. (Cuadro 1)



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	136 /157

Criterios mayores	Criterios menores
Artritis	Artralgia
Carditis	Fiebre
Corea de Sydenham	Fiebre reumática
Nódulos subcutáneos	previa
Eritema marginado	Cualquiera de éstos:  Intervalo P-R prolongado en el ECG  Aumento de la velocidad sedimentación globular.  Aumento en el nivel de proteína C reactiva.  Leucocitosis  Determinación de antiestreptolisinas

Cuadro 1: Criterios de Jones para el diagnóstico de fiebre reumática.

No hay prueba de laboratorio específica para el diagnóstico de la fiebre reumática. La evidencia de infección estreptocócica previa puede ser obtenida mediante pruebas serológicas. Todos los enfermos con fiebre reumática tienen anticuerpos para las estreptolisina O (ASO). La mayoría de los individuos normales tienen bajos títulos de anticuerpos antiestreptolisinas. Por lo tanto la evidencia de infección reciente se pueda demostrar con la elevación en los títulos de los anticuerpos.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	137 /157

**Títulos de Antiestreptolisinas que se encuentran en individuos clínicamente sanos.**

Niños de 0-2 años	Menor a 50 U Todd
Niños entre 2-5 años	Menor a 100 U Todd
Niños de 5-19 años	Menor de 166 U Todd.
Adultos	Menos de 125 U Todd.

Cuadro 2 Fuente: Angel MG, Angel RM. Interpretación clínica del laboratorio. 6ª. ed. Colombia: Medica panamericana; 2000

Las titulaciones realizadas con intervalos de dos semanas, durante cuatro a seis semanas posteriores a la infección estreptocócica, proporcionan una mejor información.

Una sola titulación de ASO con título de 125 unidades Todd no proporciona por si sola gran información; sin embargo, si este representa una elevación a partir de un título de 50 unidades Todd, éste indicará una infección estreptocócica, o que hubo infección recientemente. Una caída de un título de 250 a 125 unidades Todd, indicará curación o remisión de la infección. En amigdalitis, sepsis puerperal, erisipela por estreptococos los títulos están elevados.

**MATERIAL Y REACTIVOS**

6 tubos de 13 x 100

1 jeringa estéril de 10 ml

1 frasco de estreptolisina O

4 pipetas de 1 ml

Solución salina amortiguada pH 7.4

Suspensión de eritrocitos humanos al 5% en solución salina amortiguada

Equipo:

Incubadora a 37°C

Centrifuga



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	138 /157

**SERVICIOS:** Luz, agua.

### PROCEDIMIENTO

- Obtener 5 ml. de sangre por punción venosa, deja coagular y obtener el suero.
- Usar 2 tubos para hacer dilución del suero: dilución 1:10 (0.5 ml de suero más 4.5 ml de solución salina amortiguada) y dilución 1: 500 (0.1 ml de la dilución 1:10 más 4.9 de solución salina amortiguada).

Preparar los tubos de acuerdo con la siguiente tabla:

C	Suero (mL)	Sol. Salina (mL)	Estreptolisina (mL)	Incubación	Suspensión de eritrocitos (mL)	Incubación	Centrifugación
1	1 (1:10)		0.5	37° C Tiempo 15 min.	0.5	37° C Tiempo 15 min	1,000 rpm durante  5 min.
2	1 (1:500)		0.5		0.5		
3		1	0.5		0.5		
4		1.5			0.5		

El título de antiestreptolisinas se expresa en unidades Todd.

### RESULTADOS

Si el suero neutraliza completamente la estreptolisina O, la hemólisis no se presenta y se observa un tubo con una coloración rojiza y cuando se centrifuga se observa un botón rojo.

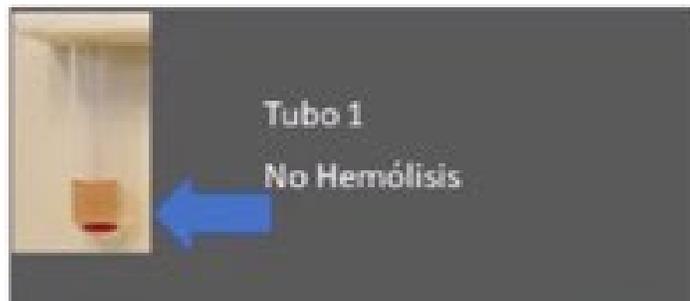
En el Tubo 1 se espera que no haya lisis porque la cantidad de Ac contra la estreptolisina (antiestreptolisina) neutraliza la cantidad de estreptolisina (0.5ml). Cuando se ponen los eritrocitos no hay estreptolisina libre para lisarlos por lo que podemos decir que el donador del suero no está enfermo.



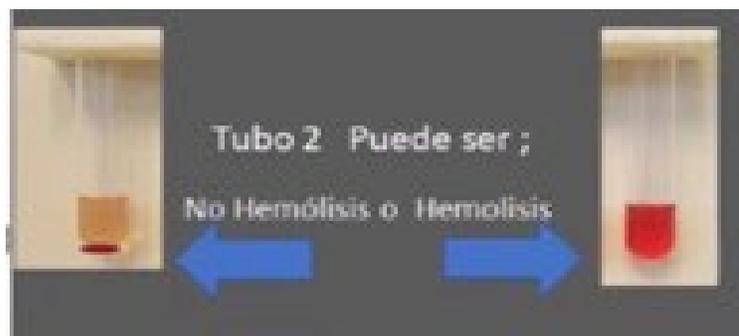
SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	139 /157



En el tubo 2 se espera que haya lisis porque el suero se ha diluido 1:500 con certeza la cantidad de anticuerpos contra la estreptolisina del suero no neutraliza totalmente la estreptolisina adicionada y la que queda lisa a los eritrocitos, en caso de que no se presente lisis esto quiere decir que el donador del suero está enfermo en ese momento.



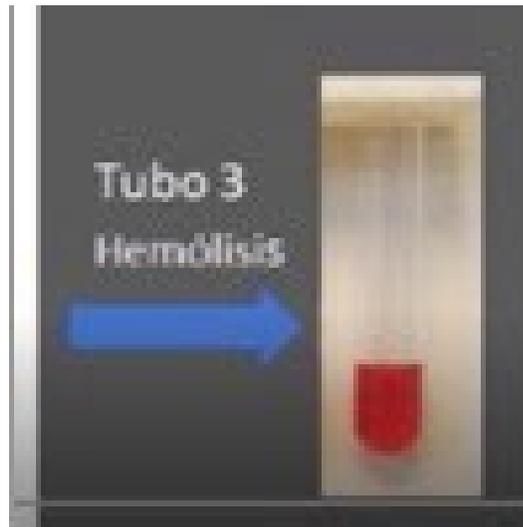
En el tubo 3 es el testigo positivo para lisis de eritrocitos porque hay estreptolisina y no hay anticuerpos por lo tanto los eritrocitos se lisan.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	<b>0</b>	<b>140 /157</b>



En el tubo 4 es el testigo negativo no hay lisis de eritrocitos porque no hay estreptolisina.





SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	141 /157

## CUESTIONARIO

1. ¿Por qué en el diagnóstico de fiebre reumática es valioso el dato del título de antistreptolisinas O (ASO)?
2. ¿Qué papel juega la proteína M del *Streptococcus pyogenes*?
3. Enumere los criterios mayores y menores para el dx de fiebre reumática.
4. ¿Qué inmunoglobulinas intervienen en fiebre reumática?

## BIBLIOGRAFÍA

- Davidsohn I, Henry JB. Todd- Sanford (1978) Diagnóstico clínico por el laboratorio. 6a. ed. Barcelona: Salvat; 1982. IMSS. Laboratorio clínico. Procedimientos. México.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg E (2011) microbiología médica. 25a. ed. México: McGraw Hill Interamericana editores.
- Parslow T, Stites D, Abba T, Imboden DJ.(2002) Inmunología básica y clínica. 10a. ed. México: Manual Moderno.
- Rojas EO.(2006) Inmunología (de memoria), 3ª. ed. México: Médica Panamericana.
- Ros J.(2014) Fiebre reumática y artritis post estreptocócica. Protoc Diagn Ter Pediatr; 1:165-



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	142 /157

## Práctica 18

### DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS HETERÓFILOS COMO DIAGNÓSTICO DE MONONUCLEOSIS INFECCIOSA

#### OBJETIVO:

Identificar en suero y/o saliva la presencia de anticuerpos heterófilos, como indicador de mononucleosis infecciosa, mediante aglutinación activa o directa.

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS:

- Definición de aglutinación.
- Defina que es la aglutinación directa
- Investigar que son los anticuerpos heterófilos
- Mencione el cuadro clínico de mononucleosis infecciosa

#### FUNDAMENTO TEÓRICO:

La fiebre reumática y la glomerulonefritis son enfermedades no supurativas post estreptocócicas donde se generan anticuerpos contra *Streptococcus pyogenes*, Los cuales reaccionan contra estructuras de válvulas cardíacas en fiebre reumática y contra estructuras de glomérulos en glomerulonefritis. A estos antígenos se les conoce como “antígenos de reacción cruzada”, que son antígenos que tienen diferentes fuentes y una semejanza estructural entre ellos, la capacidad para la elaboración de estos anticuerpos se presenta solo en algunos individuos.

Otros ejemplos de este tipo de antígenos, son los carbohidratos del grupo sanguíneo A, que dan reacción cruzada con el polisacárido capsular neumocócico tipo XIV, y los del grupo sanguíneo B, con antígenos de *Escherichia coli*.

La mononucleosis infecciosa es una enfermedad de distribución mundial, causada por el virus de Epstein-Barr (VEB), que es un herpesvirus (ADN virus), el cual infecta linfocitos B humanos. Esta enfermedad se presenta como un trastorno linfoproliferativo agudo por lo general, autolimitado y benigno. En individuos con inmunodeficiencias se convierte en una enfermedad grave, esta se manifiesta clínicamente con fiebre, linfadenopatía, adenomegalia, esplenomegalia y linfocitosis. El título de anticuerpos heterófilos en la mononucleosis infecciosa se eleva en la primera semana de la enfermedad y alcanza un máximo a las dos semanas y permanece alto hasta por aproximadamente 6 semanas



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	143 /157

después. La presencia de éstos anticuerpos pueden aparecer tardíamente en la enfermedad y el retraso en la aparición de estos se asocia con convalecencias prolongadas que una vez resuelto el cuadro clínico, los títulos de anticuerpos pueden permanecer durante meses o incluso años.

Los anticuerpos heterófilos también los encontramos en ciertos tipos de leucemias, linfoma de Burkitt y enfermedad de Hodgkin (linfomas donde está fuertemente asociado a la infección por VEB), también en, hepatitis viral y lupus eritematoso sistémico.

En la enfermedad del suero originada por faboterapia, la presencia de estos anticuerpos se debe a que en México, la mayor parte de los sueros usados en esta seroterapia provienen de caballos inmunizados deliberadamente con toxoides y venenos.

Los llamados anticuerpos heterófilos, que se forman durante la mononucleosis infecciosa se encuentran en el 80-90% de los pacientes que la padecen, su presencia es un indicador útil para establecer el diagnóstico de esta infección a través de una técnica de aglutinación directa o activa, poniendo a reaccionar el suero o saliva de éstos pacientes con eritrocitos de caballo que poseen la estructura similar al virus que produce la infección, generando una reacción cruzada.

La detección de anticuerpos heterófilos, se realiza en aquellos individuos que van a donar órganos, para evitar que éstos sean portadores del virus de la mononucleosis infecciosa.

#### **MATERIAL POR EQUIPO:**

- Tubos de ensayo con muestra de saliva y suero
- Suspensión de glóbulos rojos de caballo al 1% en PBS.
- Solución salina amortiguadora de fosfato (PBS)
- Testigo positivo del ensayo
- Placa de microtitulación
- Micropipetas de 50 a 100 µl. con puntas



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	144 /157

**PROCEDIMIENTO:**

1. Colocar 50  $\mu$ l de PBS en los pozos 1 al 12 de la fila A de la placa de microtitulación.
2. En el pozo 1 colocar 50  $\mu$ l de la muestra de saliva o suero y realizar diluciones al doble con los microdilutores de 50  $\mu$ l hasta el pozo 11, desechar los últimos 50  $\mu$ l ya que el pozo 12 solo lleva PBS ya que es el testigo negativo.
3. Repetir el mismo procedimiento en la fila B pero con suero de conejo anti glóbulos rojos de caballo (esta fila será el testigo positivo del estudio)
4. Adicionar 50  $\mu$ l de suspensión de glóbulos rojos de caballo a todos los pozos en ambas filas.
5. Mover suavemente toda la placa de forma horizontal para que se mezclen.
6. Incubar 30 minutos a 37 grados centígrados.
7. Leer aglutinación y reportar el título de anticuerpos.



Placas de microtitulación



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	145 /157



Micropipetas automáticas o pipetas Eppendorf



Llenado de pozos de una placa de microtitulación



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	146 /157

### RESULTADOS:

- Se observará un título de anticuerpos muy alto en la fila B del ensayo, lo que permitirá identificar las características que presenta una reacción de hemaglutinación.
- Comparar la fila A (problema), con el pozo 12 de la fila A (testigo negativo) y la fila B que son testigos positivos.
- Los títulos de saliva serán más bajos que los encontrados en el suero o en el plasma, en aquellos individuos infectados con la enfermedad activa o portadores de la mononucleosis infecciosa.
- Los individuos que han recibido faboterapia darán resultados falsos positivos.

Ejemplo:

Pozo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												

En este ejemplo en la fila A el pozo No. 6 es el primero que se parece al pozo No.12 (testigo), por lo tanto, el título de anticuerpos será el encontrado en el pozo No. 5, tomando en cuenta la dilución que hay en ese pozo No. 5.

La fila B es el control positivo de la prueba, por lo tanto ningún pozo se parece al pozo 12 .



La fila A es el título de hemaglutinación de glóbulos rojos de caballo (anticuerpos heterófilos).



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	147 /157

### CUESTIONARIO.

1. ¿Cuál es la diferencia entre una precipitación y una aglutinación?
2. ¿Cuántos tipos de aglutinación existen?
3. ¿Qué manifestaciones bucales se presentan durante la mononucleosis infecciosa?
4. ¿Por qué es importante que los donadores de órganos estén libres del virus Epstein-Barr?.

### BIBLIOGRAFÍA:

- Brooks, G.F., Carrol K.C., Butel J.S.(2010), Microbiología médica, (capítulo 33) Herpesvirus, Mc GrawHill Interamericana, 25 Ed., México.
- Drew L.W.(2007), Una introducción a las enfermedades infecciosas, Virus del Herpes, (capítulo 38), Mac GrawHill Interamericana, México.
- Sumaya C.V., Jenson H.B.(2002) Manual of Clinical Laboratory Immunology, Epstein-Barr virus, Editorial Rose NR, American Society for Microbiology.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	148 /157

## Práctica No. 19

### DETERMINACIÓN DEL TÍTULO DE ANTICUERPOS EN SALIVA Y SUERO CONTRA CEPAS POTENCIALMENTE CARIOGÉNICAS Y SU RELACIÓN CON EL ÍNDICE C.P.O.

#### OBJETIVO

Establecer la relación que existe entre la presencia de microorganismos cariogénicos, la presencia de anticuerpos en saliva y suero contra estos microorganismos cariogénicos y el índice de caries (CPO).

#### CONOCIMIENTOS PREVIOS

- Microorganismos que son cariogénicos
- Definición de caries dental
- Colonización bacteriana en la caries dental
- Factores que intervienen en el proceso de caries dental

#### FUNDAMENTO TEÓRICO

El suero, la saliva y sus componentes inmunológicos y no inmunológicos, son factores que pueden jugar un papel importante en el mantenimiento de la salud dental, interfiriendo en la fisiopatología de procesos infecciosos como la caries y enfermedad periodontal, donde los microorganismos son uno de los factores etiológicos más importantes.

Dentro del proceso cariogénico, los factores inmunes específicos más destacados son las inmunoglobulinas; la más estudiada es la IgA secretora (IgAs) que se sintetiza localmente y se secreta activamente, encontrándose en mayor cantidad en la cavidad bucal. En menor proporción se encuentran la IgA, IgG e IgM séricas, que llegan a través del fluido gingival.

La IgG, es el principal anticuerpo en suero, la inmunoglobulina A es uno de los principales anticuerpos en el organismo, constituye aproximadamente el 15% de las inmunoglobulinas



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	149 /157

séricas y predomina en su forma secretora (IgAs) en la saliva, lágrimas, sudor, secreciones bronquiales e intestinales, leche humana, calostro entre otros.

La IgAs en saliva inhibe la adhesión bacteriana, reduce la hidrofobicidad y la acumulación de las bacterias e inactiva las enzimas y toxinas bacterianas, hipotéticamente ayuda en la prevención de la caries dental. Pero, en la literatura internacional existen artículos científicos con resultados contradictorios con respecto a la correlación entre IgAs en saliva y la caries dental. Esto puede ser explicado por la diferencia en los estudios de los métodos de muestreo, criterios de selección de pacientes y las pruebas de laboratorio, e igualmente e importante, por factores de condiciones sistémicas como la desnutrición proteico-calórica, la obesidad, las infecciones bacterianas, el estrés psicológico, el tabaquismo, salud bucal, caries o dientes obturados, etc., todos estos factores afectan los niveles de IgAs en saliva.

Existen estudios que señalan que los anticuerpos séricos (especialmente IgG) son capaces de opsonizar *S. mutans*. Los leucocitos polimorfonucleares poseen receptores específicos para la porción Fc de la IgG que se enlaza específicamente con *S. mutans*; de este modo, se forma un complejo IgG- *S. mutans*, que se adhiere a la membrana del polimorfonuclear. El componente es internado por vacuolas llamadas fagosomas y se combinan con los lisosomas del leucocito formando el fago-lisosoma, razón por la cual, el microorganismo muere por acción de las enzimas lisosómicas.

La presencia de células plasmáticas con capacidad de elaborar IgAs en las glándulas salivares, sugiere un mecanismo selectivo programado por linfocitos B para producir esta inmunoglobulina. Las moléculas de IgAs son considerablemente más resistentes a las enzimas proteolíticas que las IgA, IgG e IgM séricas. Esta resistencia relativa hace que la IgAs esté mejor adaptada a la cavidad oral y otras membranas mucosas.

Algunos autores han correlacionado la IgAs con la caries dental, al encontrar índices más altos de esta inmunoglobulina en pacientes sin caries, lo que lleva a pensar que la IgAs juega un papel protector contra esta enfermedad y que niveles bajos de este anticuerpo se asocian con mayor riesgo de caries y enfermedad periodontal.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNATICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	150 /157

También se ha observado que durante el desarrollo de la caries dental hay un aumento de los niveles de anticuerpos IgG e IgM en suero y de complejos inmunes compuestos por anticuerpos séricos y antígenos de *S. mutans* que pueden suprimir la estimulación del sistema inmune de mucosas, siendo esta una posible explicación del porqué los niveles de anticuerpos IgAs se deprimen tras el desarrollo de la caries dental. Este hecho fue apoyado por estudios secuenciales que revelaron que después del tratamiento contra la caries sigue un aumento en el nivel de anticuerpos IgA contra *S. mutans*, coincidiendo con una disminución de los niveles de IgG e IgM en el suero.

El anticuerpo a identificar en saliva será de tipo IgAs, y en suero se espera identificar anticuerpos de tipo IgG.

#### **MATERIAL Y REACTIVOS POR GRUPO**

Placa de microtitulación

Micropipetas de 50  $\mu$ L

2 Tubos de ensaye

Saliva y suero de un mismo donador (de preferencia con caries activa)

Baño maría

PBS (solución amortiguadora de fosfatos)

Jeringas de 5 ml

Antígeno de Carbohidratos de *S. mutans* pegados a glóbulos rojos de carnero.

Antígeno de Carbohidratos de *S. sanguis* pegados a glóbulos rojos de carnero.

Microdilutores

Mechero

Alcohol

Equipo:

Centrifuga



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	151 /157

**SERVICIOS:** Agua, luz, gas

### PROCEDIMIENTO

1. Extraer 5 ml de sangre de un compañero y separar el suero.
2. Pedir al mismo donador 3 ml de saliva y filtrarla con la jeringa con algodón.
3. Incubar ambas muestras en baño María a 62<sup>º</sup> C por 3 minutos para inactivar el complemento.
4. Colocar con una micropipeta una gota (50µl) de PBS en cada uno de los pozos (1 a 12) de la placa de microtitulación en las filas A y B.
5. Colocar con otra micropipeta una gota (50µl) de **SUERO** en el **pozo No. 1 fila A**.
6. Introducir un microdilutor flameado y frío en el pozo No. 1 de la fila A y girarlo sin tocar el fondo ni las paredes del pozo 15 veces (como si fuese un molinillo).
7. Pasarlo cuidadosamente e introducirlo en el pozo No. 2 de la misma fila, girándolo 15 veces aproximadamente.
8. Realizar el mismo procedimiento para los siguientes pozos hasta el pozo No. 11, y no hacer nada en el pozo No. 12, ya que será el testigo negativo.
9. Flamear el microdilutor.
10. En el **pozo No. 1 de la fila B** con una micropipeta agregar una gota (50µl) de **SALIVA** y repetir los pasos del 6 a 9. En caso de tener dos donadores (Antígenos) a probar tomar dos hileras más por ejemplo C y D y realizar los pasos 1 a 10.
11. Colocar con otra micropipeta en los pozos del 1 al 12 una gota (50µl) de **glóbulos rojos** con el antígeno pegado en **ambas filas A y B** (si estamos utilizando las filas C y D hacer el mismo procedimiento).
13. Incubar a 37<sup>º</sup> C por 2 ó 3 horas y leer los resultados.

Realizar la lectura tomando como referencia lo que se observa en el pozo 12 de cada fila ya que este es un testigo negativo, de acuerdo a su lectura observe los pozos del 1 en adelante hasta que encuentre una reacción igual a la del pozo 12, el resultado será el pozo anterior al que encuentre con esa característica.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	152 /157

Ejemplo:

Pozo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												

En este ejemplo en la fila A el pozo No. 6 es el primero que se parece al pozo No.12 (testigo), por lo tanto, el título de anticuerpos será el encontrado en el pozo No. 5, tomando en cuenta la dilución que hay en ese pozo No. 5. Las diluciones van de la siguiente manera pozo No. 1 dilución 1:2, pozo No. 2 dilución 1:4, hasta llegar al pozo número 11 con la dilución 1:2056.

## RESULTADOS

- Observar y analizar los títulos de anticuerpos encontrados en la muestra de saliva y en la de suero, comparar estos resultados y relacionarlos con el índice CPO y con el número de caries activas que presenta el donador.

## CUESTIONARIO:

1. Mencione las características antigénicas de *Streptococcus mutans*.
2. ¿Por qué es necesario inactivar el complemento en esta práctica?
3. Mencione por lo menos dos funciones antibacterianas de IgAs.



SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	153 /157

### BIBLIOGRAFÍA:

- Chamorro-Jiménez, Adriana Lucía, Ospina-Cataño, Andrea, Arango-Rincón, Camilo, & Martínez-Delgado, Cecilia María. (2013). Acción de la inmunoglobulina A secretora en el proceso de adherencia del *Streptococcus mutans* al diente humano. *CES Odontología*, 26(2), 76-106. Consultado en agosto 08, 2021, en [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-971X2013000200008&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000200008&lng=en&tlng=es).
- Delgado J. Factores de virulencia de los microorganismos asociados a la caries. *Univers Odont* 2000; 20 (supl 1):44-53.
- Martínez, Sandra Elena, Juárez, Rolando Pablo, Vila, Vilma Graciela, & Hormaechea, María Inés. (2013). Relación entre la Salud Bucal y la Concentración de Inmunoglobulina A Salival en Adolescentes. *Odontoestomatología*, 15(21), 38-44. Recuperado en 07 de agosto de 2021, de [http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1688-93392013000100005&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392013000100005&lng=es&tlng=es).
- López O, Cardona D, Gutiérrez L. Relación entre el recuento de *Streptococcus mutans* y el estado de salud dental. *Revista digital de Salud Universidad Autónoma de Manizales*. 2005; 1(1).
- Rodríguez A, Gonzáles DO. Fisiopatología de la caries dental. *Univers Odont* 2000; 20 (supl 1):21-27.
- Zaldívar Ochoa M. El sistema inmunológico de las mucosas [en línea]. *Rev Cubana Med GenIntegr* 2002;18(5):352-354.[Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/mgi/vol18\\_5\\_02/mgi1252002.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/mgi/vol18_5_02/mgi1252002.htm) fecha de acceso: 18 de octubre de 2011.



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	154 /157

## ANEXOS

### TINCIÓN DE GRAM

Es definida como una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: Gram negativas y Gram positivas. Fue desarrollada por el científico danés Hans Christian Gram en 1884. Los principios de la tinción de Gram están basados en las características de la pared celular de las bacterias, la cual le confiere propiedades determinantes a cada microorganismo. La pared celular de las bacterias Gram negativas está constituida por una capa fina de peptidoglicano y una membrana celular externa, mientras que las bacterias Gram positivas poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglicano, pero no cuentan con membrana celular externa; así pues, la composición química y el contenido de peptidoglicano en la pared celular de las bacterias Gram negativas y Gram positivas explica y determina las características tintoriales.

La tinción de Gram se basa en realizar primero un extendido de una muestra bacteriana en una gota de agua sobre un portaobjeto y posteriormente fijarlo al calor con el método de Koch, a este procedimiento se le conoce como "frotis".

### REALIZACIÓN DEL FROTIS





Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
SGC-FESZ-CD-ML08	03/09/2021	0	155 /157

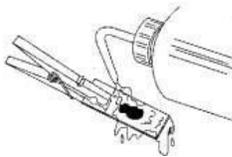
## TÉCNICA

Una vez realizado el frotis se siguen los siguientes pasos:

- 1.- Cubrir superficie del preparado con cristal violeta y dejar en contacto por 1 minuto (colorante primario).



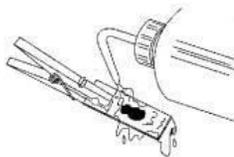
- 2.- Lavar con agua.



- 3.-Cubrir la muestra con yodo lugol por 1 minuto (mordiente).



- 4.- Lavar con agua



- 5.- Colocar alcohol acetona por 15 segundos (decolorante).



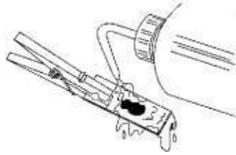


SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD DE LOS  
LABORATORIOS DE DOCENCIA  
MANUAL DE LABORATORIO DEL MÓDULO  
MECANISMOS INFECCIOSOS Y RESPUESTA INMUNE DEL  
SISTEMA ESTOMATOGNÁTICO



Código	Fecha de aprobación	Versión	Página
<b>SGC-FESZ-CD-ML08</b>	<b>03/09/2021</b>	<b>0</b>	<b>156 /157</b>

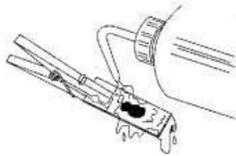
6.- Lavar con agua.



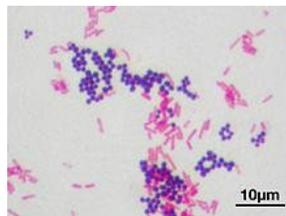
7.- Cubrir la muestra con safranina por 1 minuto (color de contraste).



8.- Lavar con agua.



9.- Dejar secar y observar al microscopio



López JLE, Hernández DM, Colín CCA, Ortega PS, Cerón-GG, Franco CR. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. Medigraphic 1(3) 2014 p 10-18