



## FORMACION DE PLACA IN VITRO POR CANDIDA ALBICANS Y ACCION DE LA CLOREXIDINA

DR. RUBÉN A. MARTÍ \*, DRA. BEATRIZ LEYBA DE MARTÍ \*\*,  
OD. NELLY C. AGOSTINELLO y BIOQ. MARÍA R. NASELLO \*\*\*

### RESUMEN

De un grupo de 70 estudiantes de Odontología entre 18 y 24 años, se asiló *C. Albicans* a partir de placas bacterianas de caras vestibulares y linguales de molares superiores e inferiores en el 21,14 % de los casos. A partir de estas cepas se realizó la experiencia que consta de dos partes. En la primera se investigó la formación de placa "in vitro", para lo cual se cultivó en medio base con el agregado de hidratos de carbon como glucosa, sacarosa, lactosa, almidón y maltosa, obteniéndose formación de placas con distintas gradaciones en lo que se refiere a cantidad y adhesividad, según los azúcares.

A partir de esos resultados se inició la segunda experiencia que consistió en el agregado de distintas concentraciones de clorexidina al medio de cultivo a utilizar comprobándose la inhibición de la placa in vitro en concentraciones de hasta 0,15 % en algunas cepas.

Con ésto se ha podido determinar: 1) que en un porcentaje relevante de casos (21,14 %) este microorganismo se encuentra en placas bacterianas. 2) Que *Candida Albicans* forma placa in vitro a partir de hidratos de carbono; 3) que sustancias antiplacas, como la clorexidina puede inhibir el desarrollo de *C. Albicans* en concentraciones de 0,2 %.

### SUMMARY

*Formation of plaque in vitro by Candida Albicans and Chlorhexidina a tion*

The presence of *Candida Albicans* in bacterial plaques taken from the vestibular and lingual faces of the upper and lower molars was investigated in a group of students from the School of Dentistry ranging from 18 to 24 years of age. *Candida Albicans* was found in the 21,14% of the cases studied.

\* Profesor Titular Interino Cátedra de Microbiología.

\*\* Profesora Adjunta Interina.

\*\*\* Jefes de Trabajos Prácticos.

The experience that is composed of two parts was performed starting from these strains: the formation of plaque "in vitro" was investigated during the first part of the experience. It was cultivated in a base medium adding carbohydrates, namely, glucose, saccharose, lactose, starch and maltose obtaining plaques formation with different gradations in quantity and adherence according to sugars. Starting from these results the second part of the experience was initiated. It consisted in the aggregate of different concentrations of chlorhexidine to the culture medium to be used. Inhibition of plaque in vitro was proved in concentrations of up to 0,15% in some strains.

From this we could determine that; 1) this microorganism is found in bacterial plaques in a relevant percentage of cases (21,14%). 2) Candida Albicans forms plaque in vitro starting from carbohydrates; 3) antiplaque substances like Chlorhexidine can inhibit the development of Candida Albicans in concentrations superior to 0,2%.

### INTRODUCCION

Cándida Albicans es un hongo endógeno, que se encuentra presente en un 10 a 20 % en bocas sanas (19), aumentando su frecuencia en bocas con caries (37,87%), como se demostrara en experiencias anteriores (17).

Está perfectamente comprobado la importancia de los gérmenes formadores de placa en la producción de caries dental (11-12).

Estudios realizados de placa bacteriana confirmaron la presencia de Candida Albicans en un 14 a 16 % (2-6). Este hecho llevó a la investigación de la capacidad de este microorganismo para formar placa frente a distintos azúcares obteniéndose placas de poca adherencia (7). La posible relación de este hongo con caries dental (17), el hecho de haber sido aislado de placas bacterianas (2-6) y cierta capacidad de formar placa in vitro (7), nos ha movido a investigar la real capacidad de formar placa, como así también la acción de la clorexidina como agente inhibidor de aquella.

### MATERIALES Y METODOS

El material se tomó de placas bacterianas de caras vestibulares y linguales de molares superiores e inferiores de 70 alumnos de segundo año de la Facultad de Odontología, cuya edad oscilaba entre 18 a 24 años que presentaban su cavidad bucal en estado de salud.

Se utilizaron como medios de cultivos Agar Sabouraud-maltosa con el agregado de penicilina y estreptomocina, con la finalidad de inhibir los contaminantes. Los tubos fueron incubados a temperatura ambiente.

De las colonias así obtenidas, se realizaron coloración de Gram, se sembró en medio de Clamidosporos Agar y en suero humano para detectar la formación del tubo germinal.

Para el estudio de la formación de la placa, se utilizó el medio Base (Proteosa peptona, extracto de levadura, fosfato dipotásico, fosfato monopotásico, agua destilada y cloruro de sodio) con el agregado de carbohidratos al 5 %.

Se utilizaron carbohidratos comunes de la dieta como sacarosa, glucosa, almidón, lactosa y maltosa. Las soluciones fueron esterilizadas por filtración.

Para investigar la acción del gluconato de clorexidina, se prepararon las siguientes concentraciones de la droga: 0,2 %; 0,15 %; 0,10 %; 0,05 %; 0,025 %.

La experiencia consta de dos partes, la primera en la cual se aisló *C. Albicans* a partir de placas bacterianas para poner de manifiesto la producción de placa *in vitro* (7) y en la segunda parte, donde se estudió la acción de la clorexidina sobre *C. Albicans* y su capacidad de formar placa.

Para investigar la formación de placa *in vitro*, se sembró en Medio Base más el agregado de hidrato de carbono, incubándose a 37°C durante 72 horas. Posteriormente los tubos inclinados se dejaron a temperatura ambiente durante 96 hs.

Una vez obtenida la formación de la placa se sembró *C. Albicans* en medio base azucarado mas clorexidina en las distintas concentraciones y la incubación se realizó como en el caso anterior

## RESULTADOS

De los 70 pacientes a los cuales se les tomó material, en 21,14 % se aisló *Cándida Albicans* con las que se realizaron las experiencias posteriores.

En la primera parte de la experiencia se obtuvo la formación de placa, con distintos grados de adherencia y abundancia comparando con los testigos.

Es de hacer notar que frente a algunos azúcares la placa no solo se formó sino que rodeó en su crecimiento las paredes del tubo (foto I).

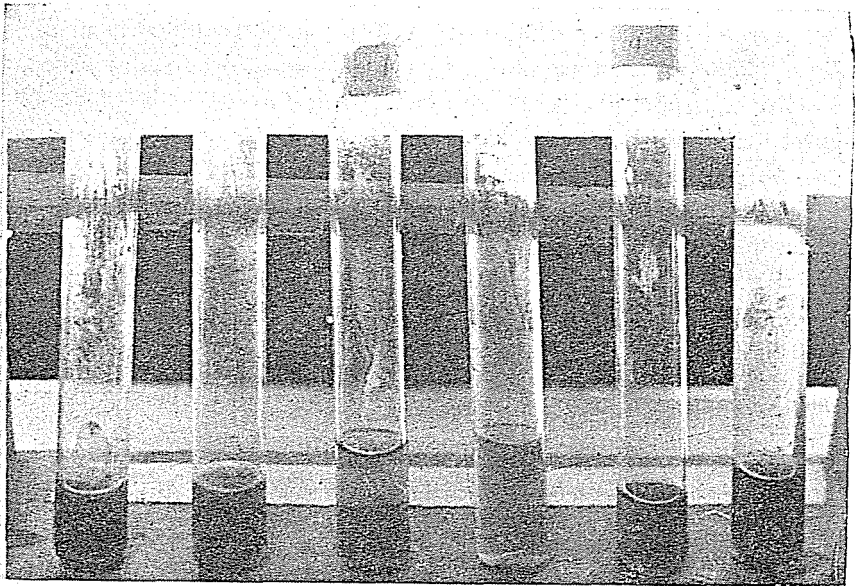


Foto I

Los resultados pueden ser observados en el cuadro I.

En la segunda parte de la experiencia se pudo comprobar la acción del gluconato de clorexidina en las distintas concentraciones los resultados figuran en el cuadro II.

#### DISCUSION Y CONCLUSIONES

Muchos son los investigadores que se han advocated al estudio de la placa bacteriana y en especial al de los gérmenes con capaci-

CUADRO I

Cepa	Sacarosa	Lactosa	Glucosa	Almidón	Maltosa	Testigo
I	++	-+	++	++	++	-
II	++	-+	++	++	++	-
III	++	-+	++	++	++	-
IV	++	-+	++	+++	++	-
V	++	-+	++	+++	++	-
VI	++	-+	+++	++	++	-
VII	++	-+	++	++	++	-
VIII	++	-+	++	+++	++	-
IX	++	-+	++	++	+++	-
X	++	-+	++	++	+++	-
XI	++	-+	+++	++	+++	-
XII	++	-+	++	++	+++	-
XIII	++	-+	++	++	++	-
XIV	++	-+	++	++	++	-
XV	++	-+	+++	+++	+++	-
%	100 %	100 %	80%-20%	73,33 % 26,66 %	73,33 % 26,66 %	100 %

++: Adherente y abundante.

+++ : Adherente, abundante, rodeando las paredes del tubo.

-+ : Escasa.

- : No forma placa.

CUADRO II

Medio Base más Hidratos de Carbono	Diluciones de Clorexidina				
	0,2	0,15	0,10	0,05	0,025
SACAROSA	-	-	-	6,66%	13,33%
LACTOSA	-	-	-	-	-
GLUCOSA	-	13,33%	13,33%	26,66%	26,66%
ALMIDON	-	-	-	-	6,66%
MALTOSA	-	-	-	6,66%	13,33%

dad de formar placa. Se ha demostrado fehacientemente que para que la caries se produzca, es necesario en primer lugar la formación o depósito de gérmenes acidogénicos sobre la superficie del esmalte. Para que estos depósitos se acumulen deben estar presente los gérmenes con cierta capacidad de adhesión a la superficie de los dientes (11).

Se les ha dado importancia a los estreptococos cariogénicos (5-12-13), como así también a los gérmenes filamentosos (15-20). Se estudió la capacidad de adhesividad de *Cándida Albicans* (3) y éste al ser un hongo endógeno como así también acidogénico, podría tener vinculación con la caries dental (17).

Damasceno y Miranda, obtuvieron formación de placa de *C. Albicans* (7) partir de algunos hidratos de carbonos como glucosa, sacarosa y maltosa pero esta placa presentaba poca adhesividad.

Si este hongo es formador de placa de acuerdo a los resultados obtenidos en nuestra experiencia y por su capacidad de formar ácidos a partir de hidratos de carbono podría considerarse sin lugar a dudas un microorganismo coadyuvante en la formación de caries. Por lo tanto es importante conocer si sustancias inhibitoras de placa son efectivas para *C. Albicans*, como es el gluconato de Clorexidina.

Se ha demostrado que la clorexidina tiene acción bactericida sobre el estreptococo *Mutans* (18), no así frente al lactobacilo que resiste la acción de esta droga (8).

Johansen (14) demostró una disminución en el número de caries en pacientes que utilizaron dentífrico con clorexidina durante dos años. Otros autores (1-9-10) han comprobado que la remoción de la placa y el uso de clorexidina redujeron notablemente el número de caries.

Langslet y col. (16), Budtz-Jørgensen y Løe (4), han utilizado clorexidina en pacientes con estomatitis o candidiasis oral, obteniendo éxito en el tratamiento.

En conclusión pensamos que *Cándida Albicans* es un microorganismo de cierta importancia en la formación de placa bacteriana,

que si bien no forma una placa tan adhesiva como la del estreptococo Mutans, tiene suficiente adhesidad a las paredes del vidrio, lo que demuestra que puede adherirse a la superficie de los dientes. En cuanto a la acción de la clorexidina se ha comprobado que inhibe el desarrollo y por ende la formación de la placa en concentraciones mayores de 0,15 % y que es más efectiva cuando la placa proviene de sustratos como la lactosa.

En los casos en que se obtuvo escaso desarrollo de *C. Albicans* en concentraciones de 0,15 %, se comprobó que en concentraciones menores de la droga aumentaba el desarrollo del microorganismo.

Se comprobó además que a diferencia de los estreptococos Mutans (18) *C. Albicans* es más resistente a la acción de la clorexidina y que en concentraciones de hasta 0,15 % este microorganismo se mantiene viable, es decir con capacidad de reproducirse, el tiempo en que duró la experiencia, siete días.

Podemos decir que el gluconato de clorexidina tiene acción fungicida y antiplaca en concentraciones de 0,20 % según nuestra experiencia.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Bassiovny, M. H. and Grant, A. A. The toothbrush application of chlorhexidine. Br. Dent. J. 139; 323, 1975.
2. Bronstein de Simkin, R. A.; Negroni de Bonvehí, M. y Nastri, R. Papel de *Cándida Albicans* en placa dental. Actas Resúmenes de SAAIO, 1977.
3. Bronstein de Simkin, R. A.; Negroni de Bonvehí, M. y Nastri, R. Formación de placa invitro con diversos hidratos de carbonos a partir de *Cándida Albicans*. Acta de resumen de SAAIO año 1977.
4. Pudtz-Jørgensen, E. and Løe, H. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. Scand. J. Dent. Res. 80; 457, 1972.
5. Carlsson, J. Presence of various types of nonhaemolytic streptococci in dental plaque and in other of the oral cavity in man. Odont. Revy 18; 55, 1977.
6. Damasceno, C. A. Estudo ecológico de *Cándida Albicans* na cavidade oral. Fac. Odont. U.F.M.G. Belo Horizonte. Tesis Doctoral. 1972.
7. Damasceno, C. A. y Miranda, W. E. Formacao de placa "in vitro" con *Cándida Albicans* isolada de placa dentária humana. Arq. Cen. Est. Fac. Odont. 11: 53, 1974.

8. Emilson, G. and Fornell, J. Effect of toothbrushing with chlorhexidine gel on salivary microflora oral hygiene and caries. *Scand. J. Dent. Res.* 84: 308, 1976.
9. Flötra, L.; Gjerme, P. Rølla, G. and Waerhaug, S. A 4 month study on the effect of chlorhexidine mouth washes on 50 soldier. *Scand. J. Dent. Res.* 80: 10, 1972.
10. Flötra, L. Different modes of chlorhexidine application and related local sides effects. *J. Period. Res.* 8: 41, 1973.
11. Fitzgerald, R. J. and Keyes, P. H. Demonstration of etiology role of streptococci in experimental caries in the hamster. *J. Amer. Dent. Res.* 16: 9, 1960.
12. Gibbons, J. R. and Banghart, S. B. Synthesis of extracellular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. *Arch. Oral Biol.* 11: 549, 1966.
13. Guggenheim, B.; Koning, K. G. and Muhleman, H. R. The cariogenicity of different dietary carbo-hydrates tested in rats in relative gnotobiosis with a streptococcus producing extracellular polysaccharide. *Helv. Odont. Acta* 10: 101, 1966.
14. Johansen, J. R.; Gjerme, P. and Erillsen, H. The effect of 2 years use chlorhexidine containing dentifrices on plaque, gingivitis and caries. *Scand. J. Dent. Res.* 83: 328, 1975.
15. Jordan, H. V. and Keyes, P. H. Aerobic gram positive filamentous bacteria as etiologic agent experimental periodontal disease in hamster. *Arch. Gial. Biol.* 9. 401, 1964.
16. Langslet, A.; Olsen, I.; Lie, O. S. and Løekken, D. chlorhexidine treatment of oral candidiasis in seriously disease children. *Acta Pediatric. Scand.* 63. 809, 1974.
17. Martí, R. A. y Leyba de Martí, B. Posible correlación entre cultivos positivos de *Cándida Albicans* y caries. *Rev. Fac. Odont. (Cba).* 9:89, 1977.
18. Martí R. A.; Leyba de Martí, B.; Agostinello, N. y Suppo, M. E. Acción de la clorexidina sobre el estreptococo *Mutans*. *Rev. Fac. Odont. (Cba.)* 11. 17, 1981.
19. Negroni, R. (En Grispan, D.: *Enfermedades de la Boca*. Bs. As., Mu-di, 1975, op. 552-556).
20. Querido, N. B. G. Ocorrencia de *Odontomyces Viscosos* e *Rothia Dentocariosa* na cavidade oral: aspectos de sua patogenicidades. *Fac. Odont. Sao Jose dos Campos. Sao Paulo, Tesis Doctoral, 1972.*