



Colonización de la cavidad oral por *Streptococcus* grupo mutans, según edad, evaluado en saliva por un método semi-cuantitativo

Alfredo C. Linossier, Carlos Y. Valenzuela, Eduardo R. Soler y Estela M. Contreras

Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.
Facultad de Medicina
Servicio de Odontología (ACL, ERS, EMC).

Universidad de Chile, Santiago.
Facultad de Medicina, Instituto de Ciencia Biomédicas.
Programa de Genética Humana (CV).

Megasalud, Santiago, Chile.
Gerencia Odontológica (ERS).

Hospital de Carabineros de Chile, Santiago.
Servicio de Sanidad Dental (EMC).

Recibido: 18 de marzo de 2010

Aceptado: 31 de enero de 2011

Financiamiento: Subvencionado por Fondecyt N° 1960842
Declaración de conflictos de interés.

Correspondencia a:

Alfredo C. Linossier
alinossi@gmail.com

Colonization of the oral cavity by group mutans streptococci according to age assessed by a semi-quantitative method in saliva

Objective: To evaluate the colonization of group mutans streptococci according to age, measuring the amount of bacteria in saliva with a semi-quantitative method in a population attended in public and private dental centers of the Metropolitan Region, Santiago, Chile. **Patients and Methods:** Saliva samples were obtained from 14,649 patients aged 5 to 40 years, in one public and 5 private dental centers. Bacteria concentration was estimated by the comparison with a standard counting-chart. The concentration of group mutans streptococci in saliva was test by a 3-way ANOVA. **Results:** Bacterial concentration of *Streptococcus mutans* related with the age of patients was significant ($p < 0.001$). Bacterial concentration in the preschool age was $4,7 \times 10^5$ CFU/mL at 5 years, while $6,0 \times 10^5$ CFU/mL at 12 years of age, with a decrease in patients over 30 years. Bacterial concentration was significantly different in the six centers of the study. **Conclusions:** The semi-quantitative method was useful to determine the colonization by *Streptococcus mutans* according to age. This could help for identifying population at high risk of dental caries and to develop oral health prevention programs in specific populations.

Key words: Oral cavity, Colonization, group mutans streptococci, semi-quantitative method, age, saliva.

Palabras clave: Cavidad oral, colonización, *Streptococcus* grupo mutans, método semi-cuantitativo, edad, saliva.

Introducción

La cavidad oral es un ecosistema donde cohabitan principalmente comensales –aproximadamente 10^{10} bacterias, siendo el 60% cultivables– pertenecientes a aproximadamente entre 500 y 700 especies, que colonizan las mucosas y dientes donde forman la placa bacteriana o biofilm, entre las cuales están los miembros del género *Streptococcus*^{1,2}. *Streptococcus* del grupo mutans ha sido estudiado a través de tests bioquímicos, serológicos y métodos moleculares que incluyen hibridación ADN-ADN y secuenciación de genes ARN ribosomales^{3,4}. Las especies más importantes en el humano son *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*². Estos se han caracterizado como colonizadores secundarios del biofilm que rodea a los dientes y su patogenicidad se ha demostrado en relación a la producción de caries del esmalte, debido a la capacidad que poseen de producir ácidos a partir de la sacarosa⁵.

Una revisión sistemática de 2.730 referencias de estudios ciego randomizados, longitudinales, caso controles y prevalencia, confirmó en orden de significancia, una asociación en el inicio de las caries en las superficie libre y fisura de las coronas con *S. mutans*⁶. Sin embargo, para

estudiar la relación entre colonización bacteriana de la cavidad oral y caries, en Chile, es necesario primero tener una estimación del nivel de colonización bacteriana en la población chilena, con un método sencillo, de bajo costo, que se pueda aplicar fácilmente en la consulta odontológica ordinaria. Para ese objetivo, se han desarrollado medios sólidos y líquidos de cultivo semi-selectivos⁷⁻¹⁰, que utilizan diferentes sustancias antibacterianas, como la alta concentración de sacarosa, bacitracina, sulfato de polimixina B y cristal violeta e involucran como técnica la sonicación de las muestras, las diluciones y la siembra en un medio de cultivo en condiciones de anaerobiosis. Con una lupa esteroscópica se determinan las características propias de la morfología de las colonias (colonias muy adherentes como son las de *Streptococcus* grupo mutans) y su cuantificación, que da la concentración de este microorganismo en la superficie del diente y su relación con el riesgo de desarrollar las caries dentales¹¹.

Los métodos semicuantitativos¹¹⁻¹⁴ para el recuento de *Streptococcus* grupo mutans han sido incorporados por su bajo costo, reducen el equipamiento, simplifican el propósito de enumerar a los *Streptococcus* del grupo mutans y la observación del comportamiento de este grupo, en el esfuerzo del control de la caries dental. Estos



tests han sido utilizados en estudios epidemiológicos en reemplazo de los métodos tradicionales, debiendo ser evaluados para visualizar sus limitaciones con respecto a los cultivos tradicionales¹⁵.

Entre los medios utilizados para determinar la presencia y concentración de estos microorganismos tenemos TYCSB. Con él se ha demostrado una correlación de 99,3% entre recuento de *Streptococcus* grupo mutans cuantitativo y semi-cuantitativo. Paralelamente se comparó el recuento de *Streptococcus* grupo mutans y caries dental, observándose una correlación de 98,7% con el método cuantitativo y 99,5% con el método semi-cuantitativo¹¹.

Estudios de niveles de colonización e incidencia en grupos de niños, realizados en Latinoamérica, han demostrado una significativa correlación entre *Streptococcus* grupo mutans y caries dentales^{16,17}. Pruebas bioquímicas han evidenciado diferencias en la distribución de *S. mutans* y *S. sobrinus*; en México se encuentra 40% de *S. sobrinus* y 32% de *S. mutans*, observándose, en una muestra de niños pre-escolares, una asociación más cariogénica cuando están presentes ambos biotipos¹⁷. En Chile, los biotipos más prevalentes son *S. mutans* en 80%, en igual porcentaje para los serotipos *S. mutans* (c, f, e)¹¹. Estudios previos de prevalencia realizados en Chile con un método semi-cuantitativo para *Streptococcus* grupo mutans demostraron que la concentración bacteriana en saliva, en mujeres embarazadas con promedio de edad $27 \pm 0,5$ años y en niños entre 2 a 6 años de edad, se correlacionaba con el número de caries. Esta correlación fue corroborada en mujeres embarazadas de la Región de La Araucanía de Chile^{11,18,19}. Sin embargo, cabe mencionar que la caries dental es multi-causal y no todas caries es producida por estos estreptococos, y además colaboran factores abióticos a su producción.

El objetivo de este trabajo es establecer el nivel de colonización por *Streptococcus* del grupo mutans en la saliva, según edad, utilizando un método semi-cuantitativo de recuento, en todos los pacientes ingresados a un plan de prevención de caries, provenientes de centros odontológicos privados y públicos, de la Región Metropolitana de Chile.

Como hemos anotado, este conocimiento es fundamental para posteriormente relacionarlo con la prevalencia e incidencia de caries en estas mismas poblaciones y así optimizar una atención clínica dental integral e investigar científicamente relaciones causales. Sin embargo, el conocimiento del método semi-cuantitativo en la colonización de la cavidad oral es importante, no sólo para establecer relaciones con caries, sino para conocer las relaciones ecológicas orales y sus repercusiones en otros sistemas.

Muestra

El universo estudiado corresponde a 14.649 atenciones dentales, en programas de prevención de pacientes, con o sin historia de caries, en: un centro estatal (de las Fuerzas Armadas y Carabineros) y cinco centros privados (de una ISAPRE*) de la Región Metropolitana de Chile, entre los años 1998 y 2004. El centro estatal (Centro 1) atiende a personas provenientes de toda el Área Metropolitana. Los Centros privados corresponden a instituciones ubicadas en distintas comunas de la ciudad de Santiago y que representan distintos niveles socio-económicos [(Comuna de Santiago Centro (Alameda, Centro 2), Maipú (Centro 3), Ñuñoa (Centro 4), Puente Alto (Centro 5), Vitacura (Tabancura, Centro 6)]. Se excluyeron los pacientes que estuvieron sometidos a tratamiento con antimicrobianos por más de tres meses y antiséptico por 15 días (clorhexidina), además a las mujeres embarazadas, a las mujeres puerperas hasta un mes post parto y los pacientes con retardo mental y síndrome de Down^{2,10}.

Tipos de pacientes. Los pacientes enrolados en este estudio corresponden a personas de los estratos socioeconómicos medio, medio-alto y alto, que se atienden en el sistema de ISAPRES*; por lo tanto, no se accedió a la población de estratos medio-bajo y bajo que se atienden en el sistema público municipal (estatal) ni al alto-alto que acude al sistema privado no institucionalizado. Este estudio es anónimo y utiliza números de ficha. El consentimiento del paciente es dado al momento de acudir al examen y confirmado al retirar su resultado. Por el tipo de pacientes enrolados, el estudio es más bien microbiológico poblacional y no epidemiológico, ya que no es posible determinar precisamente la población representada por los exámenes realizados.

Método semi-cuantitativo. Las muestras de saliva fueron obtenidas dos horas después del desayuno, sin cepillado previo. La secreción salival fue estimulada por la masticación de un trozo de parafina sólida (0,9 gramos) durante dos minutos. Luego se tomó la muestra de saliva desde el vestíbulo labial inferior por medio de una espátula de plástico e inoculada en un tubo de vidrio en un ángulo de 60 grado con caldo TYCSB compuesto por 15 gr caseína, 5 gr extracto de levadura, 0,2 gr L-cistina, (Difco, Detroit, MI, E.U.A.), 0,1 gr Na_2SO_3 , 1 gr NaCl, 2 gr $\text{Na}_2\text{PO}_4 \times 10\text{H}_2\text{O}$, 2 gr Na HCO_3 , 20 gr acetato de sodio $\times 3\text{H}_2\text{O}$, 50 gr sacarosa, 15 gr agar para 1 L de agua y 0,2 unidades de bacitracina por mL de medio (Sigma, St. Luis, MI, E.U.A.) y rojo neutro, siendo sacarosa y bacitracina seleccionadores de microorganismos⁸. Posteriormente se incubaron durante 48 h a 37° C en condiciones aeróbicas.

* Institución de Salud Previsional.



Tabla 1a. Promedios y desviaciones típicas de recuento bacteriano de *Streptococcus* grupo mutans según centro de atención, edad y sexo

Edad (años)	Centro 1 Estatal						Centro 2 Alameda					
	Varones			Mujeres			Varones			Mujeres		
	n	Pro	D.T.	n	Pro	D.T.	n	Pro	D.T.	n	Pro	D.T.
5	9	5,28	2,92	11	4,41	3,90	3	3,70	5,47	6	6,68	4,01
6	28	5,09	3,25	50	4,86	3,45	44	5,57	4,26	57	6,02	3,95
7	36	5,63	3,47	55	5,16	3,72	105	6,56	3,75	132	5,75	4,00
8	47	5,20	3,47	61	5,27	3,52	135	5,14	3,96	137	5,74	3,71
9	31	3,53	3,15	33	5,43	3,81	136	5,60	3,99	133	5,41	3,78
10	23	4,55	2,98	24	4,94	3,90	106	5,55	3,76	114	5,80	3,94
11	8	3,69	2,98	3	3,67	2,30	101	5,58	3,80	112	5,90	3,91
12	4	5,00	3,54	4	6,50	4,36	79	6,24	3,80	101	6,42	3,97
13	3	7,00	5,20	2	6,25	5,30	98	6,54	3,83	106	5,90	3,75
14	2	5,50	6,36	1	10,00	-	93	5,79	4,01	99	6,49	3,61
15	-	-	-	-	-	-	55	6,40	3,94	73	6,15	3,95
16	-	-	-	-	-	-	73	6,45	3,78	64	6,42	3,84
17	1	5,00	-	-	-	-	64	6,18	3,77	57	6,95	3,81
18	-	-	-	1	5,00	-	60	6,60	3,64	61	6,00	3,71
19	1	1,00	-	-	-	-	46	5,96	3,78	49	6,97	3,64
20							9	5,56	4,41	22	5,85	3,81
21							1	5,00	-	2	3,00	2,83
22							5	6,70	4,55	9	7,23	3,61
30							3	7,50	4,33	12	5,76	4,10

N = número de exámenes; Pro = promedio/100.000; DT = (desviación típica)/100.000; Categoría 22 años comprende de 22 a 29 años; Categoría 30 años comprende de 30 a 40 años.

Estos cultivos se realizaron en el laboratorio Sopromed SA. Cada muestra fue clasificada según tabla que está de acuerdo rango de colonización semi-cuantificado en unidades formadoras de colonias (ufc) en las siguientes categorías de rangos:

- 10^4 ufc/mL de saliva.
- 5×10^4 ufc/ mL de saliva.
- 1×10^5 ufc/mL de saliva.
- $2,5 \times 10^5$ ufc/ mL de saliva.
- 5×10^5 ufc/mL de saliva.
- 1×10^6 ufc/mL de saliva.

De estas categorías se estima el recuento final, que nosotros expresaremos referente a 100.000 colonias para simplificar la presentación.

Análisis estadístico. Se confeccionó una base de datos de todas las atenciones que requirieron un examen de determinación semicuantitativa de *Streptococcus* grupo

mutans. Las determinaciones consideradas como eventos se analizaron de acuerdo a las variables edad, sexo y centro médico de atención (CMA). El análisis comprendió el análisis de la varianza (ANOVA) con tres entradas, *sexo*, *edad* y *CMA*, del recuento bacteriano. Aunque las determinaciones individuales caen en un rango numérico, el ANOVA puede aplicarse estimando los promedios en las clases o grupos de personas, ya que todas ellas son clasificadas por este mismo método semi-cuantitativo, bajo el supuesto de equivalencia entre la cantidad de bacterias y el rango asignado²⁰.

Resultados

Las Tablas 1a, 1b y 1c presentan el promedio y desviación típica del recuento bacteriano semi-cuantitativo para *Streptococcus* del grupo mutans en los seis centros de atención odontológica según edad y sexo, describiendo además las condiciones generales de los respectivos cen-



Tabla 1b. Promedios y desviaciones típicas de recuento bacteriano de *Streptococcus* grupo mutans según centro de atención, edad y sexo

Edad (años)	Centro 3 Maipú						Centro 4 Ñuñoa					
	Varones			Mujeres			Varones			Mujeres		
	n	Pro	D.T.	n	Pro	D.T.	n	Pro	D.T.	n	Pro	D.T.
5	2	3,00	2,83	1	5,00	-	2	5,50	6,36	11	5,28	4,03
6	29	5,43	3,90	29	6,12	3,83	22	5,28	3,91	42	4,79	3,67
7	69	6,15	3,88	72	5,79	4,05	74	5,55	3,58	88	5,88	3,92
8	112	6,25	3,81	114	6,38	3,81	89	5,43	3,89	116	5,44	3,79
9	155	6,71	3,67	154	6,28	3,64	130	5,88	3,78	144	5,62	3,73
10	163	6,38	3,90	168	5,84	3,73	123	4,85	3,59	134	6,47	3,84
11	139	6,06	3,75	149	6,12	3,89	121	5,76	3,76	127	5,67	3,83
12	148	6,39	3,81	137	6,28	3,97	141	5,91	3,91	140	6,26	3,73
13	119	5,46	4,00	121	6,32	3,79	109	6,55	3,75	103	6,03	3,74
14	93	6,72	3,77	98	6,29	3,74	85	5,90	3,76	123	6,24	3,72
15	65	7,32	3,38	100	6,21	3,75	84	5,83	3,60	100	6,05	3,89
16	64	5,70	4,15	88	5,76	3,96	85	5,79	3,84	95	5,91	3,85
17	52	5,53	3,65	69	6,35	3,94	82	6,15	3,94	92	5,60	3,92
18	43	7,54	3,45	48	6,27	3,62	70	6,15	3,96	97	6,13	3,79
19	29	5,93	3,96	39	6,53	4,02	53	6,02	3,62	84	5,69	3,75
20	12	6,06	4,30	17	6,30	4,25	13	5,77	3,13	29	6,45	3,92
21	1	5,00	-	-	-	-	6	8,33	2,58	6	6,66	2,58
22	-	-	-	6	3,52	3,59	6	6,41	4,13	13	6,50	3,64
30	-	-	-	2	2,55	3,46	5	2,00	1,84	12	4,42	3,62

N = número de exámenes; Pro = promedio/100.000; DT = (desviación típica)/100.000; Categoría 22 años comprende de 22 a 29 años; Categoría 30 años comprende de 30 a 40 años.

tros. En el Centro 1 (estatal) se atiende preferentemente a niños hasta 14 años, los otros atienden a pacientes mayores; sin embargo, la población numéricamente relevante correspondió a los pacientes hasta los 19 años de edad. El análisis de varianza (ANOVA) con entradas de CMA, edad y sexo, agrupada por edad desde los 5 a los 20 años, y en intervalos que comprenden desde los 21 a los 25 (categoría 21), de los 26 a los 30 (categoría 22) y de los 31 a los 40 años (categoría 30) reveló que CMA presenta heterogeneidad significativa para recuento bacteriano ($P = 0,003$). Sexo ($P = 0,536$) y edad ($P = 0,699$) presentan recuentos bacterianos distribuidos homogéneamente al interior de los CMA por lo que no aparecen significativos en este análisis conjunto. Las interacciones entre estas tres variables no resultaron significativas. El análisis de la variable edad, aislada, resultó muy significativa ($P < 0,001$) (Figura 1) debido a que el recuento bacteriano aumenta desde los 5 años ($4,7 \times 10^5$) hasta los 12 años ($6,0 \times 10^5$) y se mantiene hasta la categoría 22 ($6,1 \times 10^5$) para bajar en la categoría

23 que comprende a los mayores de 30 años ($4,5 \times 10^5$), observándose esto mismo en todos los Centros Médicos pero en forma heterogénea. Esto explica que en el total sea significativo sólo el CMA.

Por otro lado, se registraron diferencias significativas al comparar grupos de edades con el recuento semicuantitativo de *Streptococcus* grupo mutans, donde se observaron diferencias entre las categorías 5- 12 y 13 - 22 ($p < 0,0005$), 5 a 12 y 23 o más ($p = 0,002$) y 13 a 22 y 23 o más ($p < 0,0005$), respectivamente (Figura 2).

Discusión

El avance de la genética bacteriana molecular ha incorporado una enorme cantidad de ensayos a nivel bacteriano, que incluye la hibridación de captura reversa, "Checkerboard", micro-ensayo de ADN, electroforesis en gel en campo pulsado, RPC en tiempo real y otras técnicas muy bien descritas²¹, los cuales permitirían enumerar y



Tabla 1c. Promedios y desviaciones típicas de recuento bacteriano de *Streptococcus* grupo mutans según centro de atención, edad y sexo

Edad (años)	Centro 5 Puente Alto						Centro 6 Tabancura					
	Varones			Mujeres			Varones			Mujeres		
	n	Pro	D.T.	n	Pro	D.T.	n	Pro	D.T.	n	Pro	D.T.
5	3	5,83	3,81	3	3,37	2,83	17	3,95	4,11	22	4,54	3,81
6	19	5,61	4,02	25	4,44	3,60	101	5,55	4,03	92	4,79	3,90
7	39	4,60	3,63	36	4,97	3,77	133	4,72	3,66	127	5,44	3,69
8	67	5,55	3,54	70	5,37	3,88	163	5,23	3,76	142	4,96	3,83
9	177	5,44	3,82	181	5,21	3,71	159	4,89	3,48	161	5,22	3,73
10	195	4,91	3,55	186	5,24	3,74	182	5,54	3,81	170	5,75	3,74
11	163	5,44	3,86	163	5,48	3,70	174	4,71	3,84	133	5,46	3,71
12	128	5,84	3,76	144	5,59	3,75	155	5,78	3,86	129	5,59	3,70
13	121	5,62	3,89	133	5,38	3,77	141	5,72	3,88	119	5,66	3,94
14	95	5,87	3,69	113	5,54	3,74	98	5,37	3,89	94	5,70	3,85
15	92	5,51	3,90	92	5,55	3,52	95	6,09	3,91	111	5,80	3,82
16	71	6,28	3,73	85	5,45	3,98	81	5,20	3,74	83	5,77	3,86
17	69	5,52	3,84	57	5,76	3,70	81	5,57	4,02	88	5,97	3,71
18	48	4,92	3,83	59	5,03	3,96	70	5,97	3,58	85	5,69	3,87
19	24	6,15	3,59	36	5,98	4,10	59	5,80	3,70	72	6,21	3,83
20	2	10,00	0,00	8	4,70	3,63	18	5,14	3,91	18	6,03	3,12
21	1	10,00	-	2	10,00	0,00	5	3,70	3,58	1	5,00	-
22	-	-	-	2	10,00	0,00	6	5,83	3,75	23	4,93	3,71
30	2	3,00	2,83	3	2,50	0,00	6	4,68	4,47	20	4,89	4,49

N = número de exámenes; Pro = promedio/100.000; DT = (desviación típica)/100.000; Categoría 22 años comprende de 22 a 29 años; Categoría 30 años comprende de 30 a 40 años.

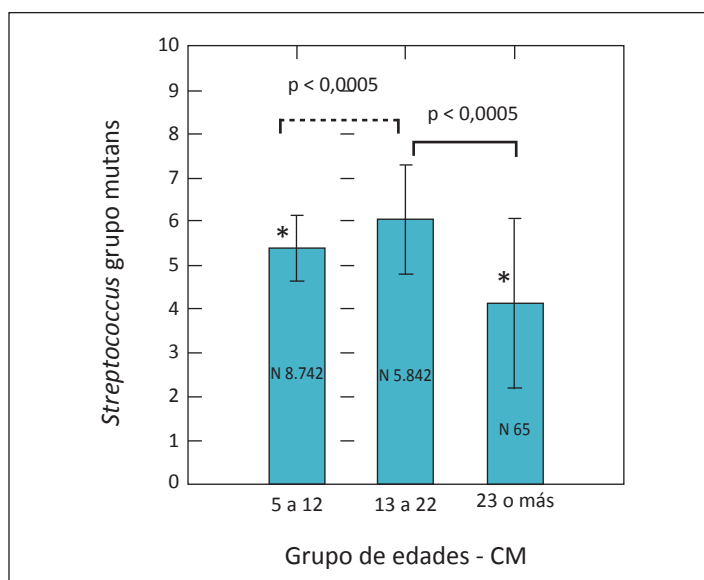
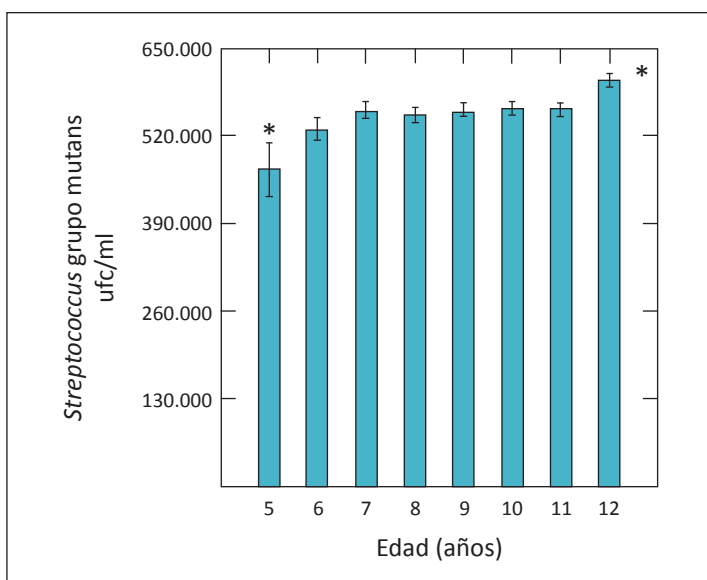


Figura 1. Recuento de *Streptococcus* grupo mutans, (ufc/mL saliva) según edades. *p < 0,001 (comparación entre grupos de 5 a 12 años).

Figura 2. N = Número de pacientes *P = 0,002 (comparación entre categoría de 5 a 12 y 23 o más).



clasificar a los *Streptococcus* del grupo mutans de una manera más significativa en cuanto a su diversidad y con mayor precisión. La aplicación de ellas, en estudios epidemiológicos de *Streptococcus* grupo mutans sería muy importantes para establecer en forma más precisa las poblaciones de alto riesgo e instaurar posibles mecanismos de prevención en estos grupos.

La utilización del método semi-cuantitativo para la cuantificación de *Streptococcus* grupo mutans en saliva, a través del uso de la espátula y su relación con la experiencia de caries dentales en niños en edad pre-escolar y escolar, es de conocimiento universal²²⁻²⁷. Con este método, en Chile, se demostró en niños pre-escolares (n = 650), sin experiencia de caries y de estrato socioeconómico bajo, que presentaban un alto recuento de *Streptococcus* grupo mutans, lo cual expresaba una relación directa con el aumento del número de caries dentales¹¹.

Los resultados obtenidos indican por una parte, la dependencia de la colonización bacteriana con la edad, y la diferencia de esta colonización encontrada en los diferentes centros asistenciales. Respecto de la edad, es claro que la concentración bacteriana aumenta desde los 5 hasta los 12 años, se mantiene hasta los 19 años y de allí empieza a declinar paulatinamente para caer bruscamente pasado los 30 años; lo que se correlaciona muy bien con la evolución etárea de las caries dentales. Este patrón ocurrió en todos los centros, pero cada uno tuvo diferencias pequeñas con los otros, que al incluir una muestra tan grande (sobre 14 mil individuos) se hicieron muy significativas. Las claras y significativas diferencias obtenidas en este estudio entre los centros, justifican buscar las posibles diferencias en la ecología oral en las diferentes poblaciones de distintas comunas de la Región Metropolitana. Esta intencionalidad queda fuera de la investigación presente, por ser nuestra medición una aproximación primaria e indirecta de la salud oral y porque requeriría de proyectos que incluyeran variables de tipo antro-eco-odontológicas (nivel de educación, alimentación, conductas de higiene dental, tratamientos de prevención, acceso a atención en los centros de salud oral, etc.).

Estudios recientes comparan los diferentes “*Chairside cultural test*” donde se observa que la adherencia en el uso de la paleta para *Streptococcus* grupo mutans es alto, utilizando como caldo TYCSB¹¹. La utilización de estos métodos depende del diseño de la investigación. Esta metodología no reemplaza a la tradicional debido a que la morfología del microorganismo se pierde en la paleta y tal vez podría ser colonizada por otros microorganismo que acompañan la muestra de saliva actuando como un biofilm.

Lo que hemos encontrado en relación a la edad con el recuento de *Streptococcus* grupo mutans podría explicar esos hallazgos, ya que éste aumenta desde los 5 años (4,7 x 10⁵ ufc/mL) hasta los 12 años (6,0 x 10⁵ ufc/mL), lo que se correlaciona bien con el daño dentario por caries

que se incrementa entre los 6 y 8 años. Esta cifra de recuento permanece sin variaciones hasta alrededor de los 30 años en todos los CMA estudiados y posteriormente baja, aunque el número de muestras en esta categoría es menor. Estos hallazgos nos permiten proponer que el método semi-cuantitativo enfocado al agente causal de la caries dental es útil para estudios poblacionales y que los presentes resultados pueden ser utilizados para comparar tendencia de salud-enfermedad en diversas poblaciones del mundo. Para el estudio poblacional de ésta, el rango de colonización según edad estaría entre >10⁵ a 10⁶, lo cual posibilitaría una alta prevalencia e incidencia a la caries dental.

Recientemente se ha cuestionado si las enfermedades poli-microbianas responden a los postulados de Koch, específicamente al 1 y 3, por ejemplo la presencia *S. mutans* o *Porphyromonas gingivalis* no son suficientes como causa de la caries y la enfermedad periodontal; en ausencia de ellos se producen igualmente las patologías debido que son remplazados por otras bacterias presentes en la comunidad que sirven como soporte de ellas²⁸.

Por otro lado, hay que tener presente la alta prevalencia de *Streptococcus* grupo mutans en la población chilena y específicamente el serotipo (c, e, f) para *S. mutans*¹¹. En Japón en 2004²⁸, se aisló un nuevo serotipo k para *S. mutans*, en niños y adultos, correspondiente a 5% de las muestras. Se aisló en sangre de pacientes post extracción de una pieza dentaria y en válvulas cardíacas extirpadas de pacientes que presentaban endocarditis infecciosa. En este último grupo se encontró presente el serotipo k en 100%.

El serotipo k de *S. mutans* podría ser altamente virulento, debido a la pérdida de una proteína (190 kDa), a su baja hidrofobicidad y alta resistencia a la fagocitosis. En comparación, en los serotipos c, e y f de *S. mutans*, estas características son menores o no la poseen. Es posible que el serotipo k, pueda considerarse como un marcador de virulencia de estas cepas en sangre y ante su presencia asociarlo con afecciones a otros sistemas²⁹⁻³².

Conclusión

El método de recuento de colonias en este estudio permitió determinar el grado de colonización poblacional por *Streptococcus* del grupo mutans a diferentes edades, lo cual puede correlacionarse con alto riesgo de padecer caries dentales. Su aplicación sería útil al incorporarlo como estrategia en programas de prevención en salud bucal en poblaciones específicas.

Agradecimientos: Agradecemos los comentarios y sugerencias de Héctor Toledo y de J. Pablo Loyola- Rodríguez Z. y al personal e instituciones donde estos estudios han sido realizados.



Resumen

Objetivo: Evaluar el nivel de colonización *Streptococcus* grupo mutans según la edad, midiendo en saliva, con un método semi-cuantitativo, la cantidad de bacterias presente en una población que acude a centros odontológicos públicos y privados de la Región Metropolitana de Chile. **Pacientes y Métodos:** Se obtuvieron de 14.649 muestras de saliva de pacientes incluyendo hombres y mujeres, de 5 a 40 años, en un centro de atención estatal y en cinco de atención privada. El método de recuento fue la comparación con una tabla normada de concentraciones. El análisis estadístico incluyó ANOVA. **Resultados:** Se encontró que el recuento de *Streptococcus* grupo mutans en relación a las edades de los pacientes fue

significativo ($p < 0,001$). El recuento de bacterias en los preescolares de 5 años fue alrededor de $4,7 \times 10^5$ ufc/mL de saliva mientras que en los niños de 12 años fue de $6,0 \times 10^5$ ufc/mL, observándose además una disminución de la carga bacteriana en los pacientes de 30 años. A edades superiores se apreció un descenso paulatino. La concentración bacteriana fue significativamente distinta en los seis centros estudiados. **Conclusiones:** Este método de recuento de colonias a través de la espátula permitió determinar el grado de colonización producida por *Streptococcus* grupo mutans según las edades, es de utilidad para identificar la población de alto riesgo de caries dentales y su aplicación ayudaría a desarrollar programas de prevención en salud oral en poblaciones específicas.

Referencias

- 1.- Paster B J, Boches S K, Galvin J L, Ericson R E, Lau C N, Levanos V, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001; 183: 3770-83.
- 2.- Linossier A, Valenzuela C. *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* in oral cavity: Possible relationship to Down's syndrome. Malard J editor. Focus on Down Syndrome Research, ed. New York: Nova Science; 2004, p. 213-5.
- 3.- Coykendall A L. Classification and identification of the viridans streptococci. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2: 315-28.
- 4.- Kawamura Y, Hou X G, Sultana F, Miura H, Ekaki T. Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relations among members of genus *Streptococcus*. *Int J Syst Bacteriol* 1995; 45: 406-8.
- 5.- Loesche W J. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986; 50: 353-80.
- 6.- Tanzer J, Livingston J, Thompson A. The microbiology of primary dental caries in human. *J Dent Educ* 2001; 65: 1028-37.
- 7.- Gold O G, Jordan H V and VanHoute J. A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol* 1973; 18: 1357-64.
- 8.- Van Palenstein Helder W H, Ijsseldijk M and Huis in't Veld J H. A selective medium for the two major subgroups of the bacterium *Streptococcus* isolated from human dental plaque and saliva. *Arch Oral Biol* 1983; 28: 599-603.
- 9.- Ritz H L. Microbial population shifts in developing human plaque. *Arch Oral Biol* 1967; 12: 1561-8.
- 10.- Lang N P, Holtz P R, Gusberti F A, and Joss A. Longitudinal clinical and microbiological study on the relationship between infection with *Streptococcus mutans* and the development of caries in human. *Oral Microbiol Immunol* 1987; 2: 39-47.
- 11.- Linossier A, Vargas A, Zillmann G, Arriagada M, Rojas R, Villegas R. *Streptococci mutans*: Método semi-cuantitativo para establecer el rango de riesgo de infección bucal en niños preescolares chilenos. *Rev Med Chile* 2003; 131: 412-8.
- 12.- Jordan HV, Laraway R, Snirch R, and Marmel M. A simplified diagnostic system for cultural detection and enumeration of *Streptococcus mutans*. *J Dent Res* 1987; 66: 468-71.
- 13.- Matsukubo T, Ohta K, Maki Y, Takeuchi M and Takazoe I. A semi-quantitative determination of *Streptococcus mutans* using its adherent ability in selective medium. *Caries Res* 1981; 15: 40-5.
- 14.- Jensen B, Bratthall D. A new method for the estimation of mutans streptococci in human saliva *J Dent Res* 1989; 68: 468-71.
- 15.- Hildebrandt G H, Bretz W A. Comparison of culture media and chairside assays for enumerating mutans streptococci. *J Appl Microbiol* 2006; 100: 1339-47.
- 16.- Rodríguez Miro M J, Vega Valdés D, Fonte Martínez M, Rojas Martínez G, Elias Avila L, Gispert Abreau E, et al. *Streptococcus mutans*: its relation to cariogenic activity. *Rev Cubana Estomatol* 1989; 26: 191-206.
- 17.- Sánchez- Pérez L, Acosta E. *Streptococcus* cariogénicos predominantes, niveles de infección e incidencias de caries en un grupo de escolares. Estudio exploratorio. *Rev ADM* 2007; 64: 45-51.
- 18.- Villagran E, Linossier A, Donoso E. Recuento de *streptococci mutans* en saliva de mujeres embarazadas de la Región Metropolitana estudio transversal *Rev Med Chile* 1999; 127: 165-70.
- 19.- Herrera C H, Pantoja P, De la Maza T, Sanhueza A, Salazar L. Diagnóstico microbiológico y molecular de bacterias cariogénicas en mujeres embarazadas de la Región de La Araucanía de Chile. *Rev Chil Infectol* 2007; 24: 270-5.
- 20.- Howell D C. Statistical Methods for Psychology. 3th ed. Pacific grove C: Duxbury; 2002.
- 21.- Asikainen S, Karched M. Molecular techniques in oral microbial taxonomy, identification and typing. Roger A Editor. *Molecular Oral Microbiology*. ed. Norfolk UK Academia Press; 2008 .p. 2-27.
- 22.- Seki M, Karakama F, Terajima T, Ichikawa Y, Ozaki T, Yoshida S, et al. Evaluation of mutans streptococci in plaque and saliva: correlation with caries in preschool children. *J Dent* 2003; 31: 283-90.
- 23.- Law V, Seow W K. A longitudinal controlled study of factors associated with mutans streptococci infection and caries lesion initiation in children 21 to 72 months old. *Pediatr Dent* 2006; 28: 58-65.
- 24.- Thaweboon B, Thaweboon S, Sopavanit C, Kasetsuwan R. A modified dip-slide test for microbiological risk in caries assessment. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2006; 37: 400-4.
- 25.- Olak J, Mändar R, Karjalainen S, Söderling E, Saag M. Dental health and oral mutans streptococci in 2-4 year. Old Estonian children. *In J Paediatr Dent* 2007; 17: 92-7.
- 26.- Law V, Seow W K, Townsend G. Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children. *Aust Dent J* 2007; 52: 93-100.
- 27.- Gudkina J, Brinkmane A. Caries experience in relation to oral hygiene, salivary cariogenic microflora, buffer capacity and secretion rate in 6-year olds and 12 year olds in Riga. *Stomatologija*. 2008; 10: 76-80.
- 28.- Kolenbrander P E, Palmer R J, Periasamy S, and Jakubovics N. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nature Rev* 2010; 8: 471-80.
- 29.- Nakano K, Nomura R, Hamada S, Ooshima



- T. Demonstration of *Streptococcus mutans* with a cell wall polysaccharide specific to a new serotype k, in the human oral cavity. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 198-202.
- 30.- Linossier A, Valenzuela C Y, Toledo H. Differences of the oral colonization by *Streptococcus* of the mutans group in children and adolescents with Down syndrome, mental retardation and normal control. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008; 13: 536-9.
- 31.- Nakano K, Ooshima T. Serotype classification of *Streptococcus mutans* and its detection outside the oral cavity. *Future Microbiology* 2009; 4: 891-902.
- 32.- Nakano K, Nomura R, Matsumoto M, and Ooshima T. Roles of oral bacteria in cardiovascular-from molecular mechanisms to clinical cases: Cell-surface structures of novel serotype k *Streptococcus mutans* strains and their correlation to virulence. *J Pharmacol Sci* 2010; 113: 120-5.