



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA
ÁREA DE MICROBIOLOGÍA

Estudio comparativo del recuento e identificación de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp* y *Candida spp* en niños con Síndrome de Down y niños sin Síndrome de Down

María Graciela Pacheco Barrios

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Patricia Palma Fluxá

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dra. Sandra Rojas Flores

Santiago - Chile

2014

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Patricia Palma por su dedicación y buena disposición, por entregarme gran parte de su tiempo y simpatía durante todo el período en que se realizó este trabajo de investigación.

A la Dra. Sandra Rojas por orientarme y corregirme cuando lo requerí.

Al personal del Laboratorio de Microbiología Bucal, por su constante ayuda en el procesamiento de las muestras.

A mis amigos y amigas que hicieron mi paso por la universidad mucho más agradable y lleno de buenos momentos, y en especial a mi amiga Victoria Patiño por ayudarme en la realización de este trabajo de investigación.

Por supuesto agradecer a mi familia, en especial a mis padres y a mi hermano, por su amor y entrega, gracias a ellos soy quien soy hoy en día.

Agradecer también a mi suegra Claribel y a mi tía Pilar, quienes han sido un constante apoyo durante este proceso.

A Edgar, mi compañero de vida, que con su amor incondicional, apoyo y compañía me incentivó a seguir adelante.

Y por supuesto a mi pequeño hijo Emilio, quien es la razón de mi vida.

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
MARCO TEÓRICO.....	9
1. Síndrome de Down.....	9
1.1 Historia, etiología e incidencia.....	9
1.2 Presentación clínica.....	11
1.2.1 Anomalías sistémicas relacionadas con salud oral.....	11
1.2.2 Anomalías orofaciales.....	12
2. Patologías infecciosas de la cavidad oral.....	13
2.1 Enfermedades Gingivo-periodontales.....	13
2.2 Caries Dental.....	14
2.2.1 Epidemiología.....	14
2.2.2 Definición y patogénesis.....	14
2.2.3 Aspectos microbiológicos.....	15
2.2.3.1 <i>Streptococcus mutans</i>	15
2.2.3.2 <i>Lactobacillus spp</i>	16
2.2.3.3 Otros microorganismos implicados en la caries dental.....	17
2.2.4 Caries dental y Síndrome de Down.....	17
2.3 Candidiasis Oral.....	19

	5
2.3.1 Definición y patogénesis.....	19
2.3.2 <i>Candida spp</i>	19
2.3.3 Candidiasis oral y Síndrome de Down.....	20
HIPÓTESIS.....	22
OBJETIVO GENERAL.....	22
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
RESULTADOS.....	29
DISCUSIÓN.....	42
CONCLUSIONES.....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	47
ANEXOS.....	54

RESUMEN

Introducción: El Síndrome de Down (SD) es una anomalía genética que afecta a 2.47 por cada mil nacidos vivos en Chile, se manifiesta con retraso mental además de diversas alteraciones físicas y fisiológicas. Individuos portadores de esta anomalía presentan también inmunodeficiencia que los hace más susceptibles a diversas infecciones a nivel general, incluyendo patologías infecciosas en la cavidad oral.

Objetivo: Comparar los recuentos de especies de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.* y levaduras del género *Candida* aislados desde muestras de saliva de niños con SD y un grupo control sin el síndrome.

Materiales y métodos: 25 sujetos con Síndrome de Down y 25 controles entre 2 y 17 años fueron evaluados clínicamente para determinar el índice de Higiene Oral Simplificado, índices ceod y COPD para historia de caries. Además se recolectaron muestras de saliva no estimulada para cultivo microbiológico, a partir de los cuales se realizó el aislamiento, identificación y recuento de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.* y levaduras del género *Candida*.

Resultados: El grupo de niños con Síndrome de Down y grupo control no presentaron diferencias significativas respecto al Índice de Higiene Oral Simplificado y los índices ceod/COPD. Los hallazgos microbiológicos no arrojaron diferencias significativas en relación al recuento de *Streptococcus mutans*, pero se encontraron altos niveles de *Lactobacillus spp.* en el grupo control y altos niveles levaduras del género *Candida* en los niños con SD, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos

Conclusiones: Los altos recuentos de levaduras del género *Candida* en niños con Síndrome de Down podrían ser un factor de riesgo para el desarrollo de patologías fúngicas orales y sistémicas asociadas a estos microorganismos.

INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Down (SD) es una anomalía cromosómica autosómica resultante de una trisomía de todo o una parte del cromosoma 21,⁽¹⁾ que afecta de 1 en 600 a 1 en 1000 nacidos vivos.⁽²⁾ En Sudamérica hay tendencia al aumento de la prevalencia con un promedio de 2,89 por cada mil nacimientos en el periodo 2001-2005 y en Chile el promedio es de 2,47 para el periodo 1995-2008.⁽³⁾ La prevalencia del SD parece no estar asociado con la raza, nacionalidad, religión o estatus socio económico.^(2, 4), pero pareciera ser que la edad materna juega un rol fundamental en la incidencia de este síndrome.^(2, 3)

El SD representa la causa genética más común de discapacidad intelectual, y su nombre se debe al médico John Langdon Down, quién describió el síndrome en 1866.⁽⁴⁾ Dentro de las manifestaciones físicas más comunes del SD se incluyen una apariencia física característica, enfermedad cardíaca congénita, disfunción tiroidea, anomalías inmunológicas,⁽⁵⁾ desórdenes motores, respiratorios, hematológicos y musculoesqueléticos.⁽⁶⁾

En el territorio máxilo facial, los individuos con SD pueden presentar diversas características, como por ejemplo alteraciones en el desarrollo máxilo facial, hipotonía muscular, patologías periodontales, además de diversas anomalías dentarias como agenesias, alteraciones en la morfología dentaria, maloclusión, y retardo en la erupción.^(2, 7)

Con respecto a la caries dental, una de las enfermedades más prevalentes a nivel mundial, varios estudios han mostrado una menor prevalencia en pacientes con SD, debido al retardo en la erupción dentaria, a los componentes salivales, la morfología de fosas y fisuras menos pronunciadas y por un menor recuento de *Streptococcus mutans* (*S. mutans*).⁽²⁾ Sin embargo otros autores reportan mayor prevalencia de caries en estos individuos.⁽⁸⁾

Por otro lado, se ha sugerido que los pacientes con SD tienen mayor tendencia a desarrollar candidiasis oral, ya que presentan alteraciones anatomofisiológicas y

deficiencias en su sistema inmune que favorecen el desarrollo de esta patología.⁽⁹⁾ Diversos estudios han reportado mayores recuentos de *Candida albicans* (*C. albicans*) en pacientes con SD en comparación con pacientes sin esta cromosomopatía.^(10, 11)

Pese a los diversos reportes existentes en relación a las patologías infecciosas de la cavidad oral en individuos con SD, la información aún es insuficiente y poco concluyente. No existen demasiados estudios en relación al recuento de los microorganismos asociados con estas enfermedades y su manifestación clínica en población con SD.

MARCO TEÓRICO

1. SINDROME DE DOWN

1.1 Historia, etiología e incidencia

El SD o trisomía 21 es la alteración cromosómica más frecuente observada en la especie humana. No se conoce a ciencia cierta en qué momento de la historia surgió este síndrome, pero el dato antropológico más antiguo que se conoce del SD tiene su origen en el hallazgo de un cráneo sajón que se remonta al siglo VII D.C. También se ha señalado que en el pasado existieron posibles representaciones esculturales de esta anomalía, como lo son las figurillas de barro y las colosales cabezas de piedra pertenecientes a la cultura Olmeca que datan de aproximadamente 3000 años.⁽¹²⁾

A pesar de estos antecedentes, no existieron informes bien documentados sobre esta alteración hasta antes del siglo XIX, y durante mucho tiempo se consideró el origen del SD como una regresión en la evolución del hombre hacia un tipo filogenético más primitivo.⁽¹²⁾

La primera descripción de un niño presumiblemente afectado por SD fue proporcionada por Esquirol en 1838.⁽²⁾ Luego de ocho años, Seguin describió un paciente con características que sugerían una anomalía, que más tarde se conocería como SD⁽²⁾

En 1866 John L. Down publicó un artículo que describía con precisión algunas de las características de este síndrome que hoy lleva su nombre.^(2, 12) Down estudió a sus pacientes meticulosamente publicando en London Hospital Reports, un artículo en el que presentaba una descripción minuciosa de un grupo de pacientes con discapacidad intelectual y que mostraban características físicas muy semejantes. Down creyó que la entidad que hoy se conoce como SD era un retroceso hacia un tipo racial más primitivo. Se impresionó por el aspecto oriental de los ojos y pensó que sus pacientes parecían mongoles, que él consideraba

como una raza primitiva y poco evolucionada, de ahí surge el término idiocia mongólica o mongolismo. ⁽¹²⁾

Posteriormente, Lejeune y Jacobs (1959) determinaron que el SD es causado por la trisomía del cromosoma 21. ⁽²⁾ En 1961, un grupo de científicos decidió cambiar los términos de mongol, mongólico y mongolismo por el de SD, ya que los vocablos utilizados eran ofensivos debido a la implicación racial y la connotación étnica. ⁽¹²⁾

Unos años más tarde, Nebuhr (1974) sugirió que el fenotipo del SD puede ser causado por la duplicación de sólo una parte del cromosoma 21 banda q22, que representa aproximadamente la mitad del brazo largo. ⁽²⁾

Este síndrome es una anomalía congénita fácilmente reconocible que se caracteriza por una alteración generalizada en el crecimiento y deficiencia mental, que afecta de 1 en 600 a 1 en 1000 nacidos vivos. ⁽²⁾ En Chile, la prevalencia del SD es de 2,47 por cada 1000 nacimientos, y se ha confirmado la correlación que existe con el aumento del promedio de la edad materna ya que un tercio de los afectados nace de madres de 40 años o más. ⁽³⁾

En el 95% de los casos de SD, la duplicación del cromosoma 21 hace que el recuento cromosomal sea 47 en vez de 46. El otro 5 % da cuenta de otras alteraciones cromosómicas como la translocación, donde el cromosoma extra no está libre, sino que se transloca en otro, usualmente el cromosoma 13 o 15, dejando un recuento final de 46 cromosomas; y la otra alteración cromosómica posible es el mosaicismo, donde algunas células tienen 46 cromosomas y otras tienen 47. ⁽²⁾

1.2 Presentación clínica

El SD tiene una presentación clínica variable y compleja. Sólo algunas características se presentan en todos los pacientes con este síndrome. Éstas incluyen un cerebro más pequeño e hipocelular y la histopatología de la enfermedad de Alzheimer, que se presenta en la cuarta década. También presentan una dismorfología facial característica, mostrando a menudo un cuello corto y un tercio medio facial poco desarrollado e hipoplásico, con el canto externo del ojo más alto que el interno, la fisura palpebral angosta, y el pliegue medial del epicanto.⁽¹³⁾

La hipoplasia del tercio medio facial se asocia con poco desarrollo de los senos paranasales y también a un paladar corto, alto y angosto. Además presentan prognatismo mandibular.^(7, 13)

También el SD es factor de riesgo para distintas enfermedades como por ejemplo enfermedades cardíacas congénitas o leucemia.⁽¹⁴⁾

1.2.1 Anomalías sistémicas relacionadas con salud oral

Muchas de las características médicas y fisiológicas del SD tienen consecuencias directas en la salud oral de estos individuos, y por otra parte, un estado de salud oral deficiente podría repercutir en la condición de salud general.⁽¹⁾

Dentro de las más comunes, encontramos anomalías cardíacas congénitas, que están presentes en el 40% de estos niños.⁽²⁾ Así, una infección de origen dental puede ser de riesgo para endocarditis. Por este motivo, los pacientes con cardiopatía que necesitan tratamiento dental invasivo deben ser evaluados por cardiólogo para posible indicación de profilaxis antibiótica.⁽⁷⁾

Estos pacientes además presentan deficiencias en su respuesta inmune lo que aumenta la susceptibilidad a diversas infecciones. Particularmente se ha reportado alta frecuencia de infecciones en el tracto superior del sistema respiratorio, infecciones de oído, neumonía y bronquitis.⁽⁷⁾

Los niños con SD poseen más riesgo de leucemia, que dentro de la cavidad oral puede provocar lesiones gingivales persistentes y sangramiento espontáneo.

Otras alteraciones de estos pacientes son anomalías musculoesqueléticas, tales como inestabilidad atlantoaxial e hipotonía muscular generalizada.^(2, 7, 15)

Además es importante mencionar que estos individuos pueden presentar retraso en el desarrollo de la motricidad gruesa y fina, lo que podría restringir la coordinación de sus movimientos, por lo tanto estos niños no tienen un buen control de placa, predisponiéndolos a patologías infecciosas como caries y enfermedades gingivales y periodontales.^(2, 13)

1.2.2 Anomalías orofaciales

En el territorio máxilo facial, los individuos con SD pueden presentar diversas características, tales como menor desarrollo del tercio medio facial debido a una marcada hipotonía lingual, lo cual deja una discrepancia entre las arcadas, provocando protrusión mandibular,^(2, 7) facilitada por la laxitud ligamentaria de la articulación temporomandibular.⁽⁷⁾

La hipotonía de los músculos orbicular de los labios, zigomático, masetero y temporal puede dar lugar a distintos rasgos faciales. El labio inferior se presenta evertido, y hay protusión de la lengua, por su marcada hipotonía, pudiendo posicionarse fuera de los labios. Estos pacientes presentan en forma frecuente, respiración bucal.⁽²⁾

Las anomalías dentarias más comunes son microdoncias, hipoplasias e hipocalcificación, alteraciones en la morfología coronaria, agenesia dentaria, taurodontismo, maloclusión y retraso en la erupción dentaria temporal y permanente.⁽²⁾ Sin embargo, en población chilena no se han observado alteraciones significativas en la erupción dentaria.⁽¹⁶⁾

2. PATOLOGÍAS INFECCIOSAS DE LA CAVIDAD ORAL

2.1 Enfermedades gingivoperiodontales

En relación a patologías infecciosas dentro de la cavidad oral se ha descrito que estos individuos tienen mayor prevalencia de enfermedad periodontal.⁽¹⁷⁾

La inflamación crónica del periodonto es iniciada por el sobrecrecimiento de especies patógenas de la placa subgingival, seguida de una respuesta inmuno-inflamatoria en un hospedero susceptible.⁽¹⁸⁾ En el caso de individuos con SD existe un desequilibrio en la respuesta del hospedero frente a las bacterias.⁽¹⁷⁾ Varios estudios sugieren que anomalías genéticas en la respuesta inmune del hospedero tales como, defectos en la quimiotaxis de polimorfonucleares neutrófilos, monocitos y linfocitos, y una reducción en la producción de Inmunoglobulina M, podrían ser un importante factor que contribuye a la alta prevalencia de enfermedad periodontal en estos individuos.^(17,19)

Los pacientes con SD tienen con frecuencia lesiones periodontales con una pérdida de hueso alveolar mayor en incisivos inferiores, que en primeros molares superiores.⁽²⁰⁾ Los tejidos orales han sido particularmente estudiados y parece aumentar la colonización de ciertas bacterias patógenas en sitios específicos, llevando a una extensión de la inflamación gingival y por lo tanto aumentando el grado de placa bacteriana presente.^(19, 21)

2.2 Caries Dental

2.2.1 Epidemiología

Numerosos estudios reportan que la caries dental es el mayor problema de salud oral en la población general. Según la OMS es la tercera de todas las enfermedades crónicas que requiere atención en el mundo,⁽²²⁾ y es una de las principales causas de pérdida dentaria en niños y adultos.⁽²³⁾

La prevalencia a nivel mundial es de un 95% y 98% en Chile,⁽²²⁾ sigue constituyendo un importante problema de salud pública en muchos países desarrollados, donde afecta entre un 60-90% de los menores de edad y a la gran mayoría de los adultos. Es también la enfermedad oral más prevalente en varios países de Asia y América Latina.⁽²⁴⁾

2.2.2 Definición y patogénesis

La caries dental es una enfermedad crónica, microbiológicamente inducida y multifactorial, en la que un amplio grupo de factores biológicos, socioeconómicos y culturales interactúan, directa o indirectamente en el establecimiento y desarrollo de ésta.⁽²⁵⁾

Esta patología es un proceso dinámico y complejo que tiene lugar entre el depósito microbiano (biofilm) y la superficie del diente. Este biofilm produce cambios en el pH entre la interfase producto de los residuos metabólicos producidos por bacterias acidogénicas y acidúricas incorporadas en él. Las fluctuaciones en el pH pueden provocar un desequilibrio entre los procesos de desmineralización y remineralización del diente, lo que lleva a la disolución de los tejidos duros y la posible visualización de una lesión de caries.^(26,27)

Marsh (1994) postuló la “Hipótesis Ecológica de la Caries” (actualmente la más aceptada) la cual establece que la enfermedad de caries es consecuencia de un desequilibrio en la microbiota normal de la placa hacia una más acidogénica, provocado por una alteración en las condiciones ambientales locales (por ejemplo

ingesta frecuente de hidratos de carbono azucarados y bajo pH de la placa). Esta hipótesis además reconoce la relación dinámica que existe entre la microbiota y el hospedero, ya que también toma en cuenta el impacto que poseen sobre la composición de la placa, alteraciones en factores claves del hospedero, tales como el flujo salival.⁽²⁸⁾

2.2.3 Aspectos microbiológicos

2.2.3.1 *Streptococcus mutans*

Dentro de la microbiota cariogénica existe mucha evidencia que apoya firmemente el rol central de *S. mutans* en el inicio de la enfermedad de caries en superficies lisas y fisuras de los dientes.⁽²⁹⁾

S. mutans es el microorganismo aislado con mayor frecuencia desde lesiones de caries en humanos.⁽³⁰⁾ Es una bacteria cocácea, Gram positivo, que se agrupa en cadenas y que crece en condiciones de microaerofilia.⁽²⁸⁾

Este microorganismo posee diversos factores de virulencia que le permiten establecerse y predominar en la placa dental e iniciar el proceso cariogénico. Son bacterias acidogénicas (producen ácidos), acidofílicas (se desarrollan en medio ácidos) y acidúricas (siguen produciendo ácidos a bajo pH). Además sintetizan polisacáridos intracelulares y extracelulares, y también producen endodextranasa. La producción de polisacáridos intracelulares le permiten la continua producción de ácidos en ausencia de carbohidratos externos. Además la producción de endodextranasa facilita la invasión bacteriana en una etapa temprana de la formación de placa.⁽³¹⁾

In vitro se utiliza Agar TYCSB (Trypticase Yeast-extract Cystine Saccharose con bacitracina) para aislar a este microorganismo.⁽³²⁾ Este medio es selectivo para esta especie por la presencia de sacarosa y bacitracina en concentraciones críticas las cuales son toleradas por *S. mutans*, pero no por el resto de microorganismos orales.⁽³³⁾

2.2.3.2 *Lactobacillus spp.*

Lactobacillus spp. es otra especie bacteriana implicada en el proceso cariogénico, pero su rol en la inducción de esta enfermedad no está bien respaldado.⁽²⁹⁾

Son bacilos Gram positivos, altamente acidogénicos y acidotolerantes,⁽²⁸⁾ que aparecen en la cavidad oral durante el primer año de vida. Normalmente se encuentran en baja cantidad en la saliva, pero su número aumenta al establecerse *S. mutans* en la cavidad oral, los cuales crean un medio ácido favorable para *Lactobacillus spp.*⁽³⁴⁾ Un número variable de especies homo y heterofermentativas han sido identificadas, productoras de lactato o lactato y acetato respectivamente, a partir de la glucosa. Las especies más comunes son *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus gasseri* y *Lactobacillus oris*.⁽²⁸⁾

Su presencia depende de numerosos factores como la existencia de nichos ecológicos, por ejemplo las anfractuosidades naturales del diente, terceros molares parcialmente erupcionados o la presencia de aparatos ortodóncicos.⁽³⁵⁾

Lactobacillus no coloniza ávidamente la superficie dental, más bien se encuentra transitoriamente en la boca antes de la erupción dentaria, preferentemente colonizando el dorso de la lengua. Se encuentra en la saliva por la descamación del epitelio lingual. Su recuento en saliva parece reflejar el consumo de hidratos de carbono por parte del hospedero.⁽²⁹⁾

Para su cultivo en el laboratorio se utiliza Agar M.R.S., el cual fue desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe, y que por su formulación permite el adecuado desarrollo de *Lactobacillus* y otras bacterias ácido lácticas.⁽³⁶⁾

2.2.3.3 Otros microorganismos implicados en la caries dental

Aunque los microorganismos nombrados anteriormente son considerados como los principales agentes etiológicos de la caries dental en humanos, se ha encontrado en numerosos estudios que las especies del reino *fungi* están también involucradas en la caries dental, pero su rol como factor de riesgo no ha sido aún clarificado en su totalidad. Existe evidencia que sugiere una correlación entre la alta prevalencia de *Candida spp.* en la placa dental y saliva y el desarrollo de la lesión de caries activa.⁽³⁷⁾ Esto se ha basado en el hecho de que estas levaduras son capaces de colonizar las superficies de los dientes, invadir los túbulos dentinarios y producir gran cantidad de ácidos que desmineralizan el esmalte dentario, además de disolver hidroxiapatita, por lo cual se ha hipotetizado que *C. albicans* es un patógeno relevante involucrado en la progresión de caries.⁽³⁷⁾

También se ha reportado coagregación heterotípica entre *S. mutans* y *C. albicans*, ya que esta levadura puede adherirse a la placa mediante los polisacáridos formados por bacterias cariogénicas.^(38, 39)

2.2.4 Caries y Síndrome de Down

En relación a la prevalencia de caries dental en individuos con SD comparada con población normal, se ha visto en general menor prevalencia de esta patología. Aunque por otro lado algunos autores no han encontrado diferencias estadísticas entre los dos grupos, e incluso otros autores han pesquisado mayor riesgo de caries en estos pacientes.⁽⁸⁾

Se ha postulado que estos individuos tienen menor prevalencia debido a diversos factores como un menor recuento de *S. mutans*, un pH salival alcalino, una mayor concentración de bicarbonato y proteínas en la saliva, hipodoncia, erupción retardada y fosas y fisuras superficiales que disminuyen las zonas retentivas.⁽⁴⁰⁾ También se describe una menor prevalencia por la elevada concentración de IgA específica para *S. mutans*, lo cual inhibiría la adherencia de estas bacterias a los dientes.⁽⁴¹⁾

Un estudio comparó 138 pacientes con SD y 86 sin el síndrome entre 2 y 26 años de 15 distritos de Portugal, obteniendo como resultado que existe menor prevalencia de caries en el grupo con SD que en el grupo sin el síndrome.⁽⁸⁾

Areias et al. realizaron un estudio enfocado en las características ambientales y factores del hospedero relacionados con la caries dental en niños portugueses con y sin SD, concluyendo que los niños con SD presentaban menores tasas de caries que niños sin el síndrome.⁽⁴²⁾

En relación a los factores microbiológicos involucrados en la caries, Areias et al. compararon los recuentos en saliva de *S. mutans* y *Lactobacillus* en niños con SD y sus hermanos sin el síndrome, encontrando menores recuentos de *S. mutans* en el primer grupo, no así en relación al recuento de *Lactobacillus*, que presentaron números similares entre ambos grupos.⁽⁴³⁾ Además esto concuerda con los hallazgos hechos por Mathias et al., quienes no encontraron diferencias en el recuento de *Lactobacillus* entre niños con SD y controles sanos.⁽⁴⁴⁾

Por otro lado, los reportes que muestran una mayor predisposición a presentar caries en esta población,⁽⁴⁵⁾ sugieren que esto es debido a que poseen un menor flujo salival,⁽⁴⁶⁾ además de malos hábitos de higiene oral por su menor desarrollo de la motricidad fina y por la poca educación en salud oral de estos individuos y de sus padres o tutores.⁽⁴⁷⁾

Quijano et al. compararon la experiencia y la prevalencia de caries en un grupo de niños pre-escolares con y sin la presencia del síndrome, encontrando que los niños con SD presentaron mayor prevalencia de caries dental (70%) a diferencia de los niños sin SD quienes estuvieron afectados en un 42%.⁽⁴⁸⁾ Sin embargo, en este estudio no se observó los recuentos de *S. mutans*.

2.3 Candidiasis Oral

2.3.1 Definición y patogénesis

Las infecciones causadas por *Candida* son colectivamente llamadas como Candidiasis. En la cavidad bucal, la candidiasis oral es causada por un crecimiento excesivo de estas levaduras y es llamada como “la enfermedad del enfermo” debido a la importancia de factores relacionados con el hospedero en el desarrollo de estas patologías.⁽⁴⁹⁾

La respuesta inmune contra la candidiasis oral inicialmente involucra una compleja combinación de moléculas antimicrobianas no específicas en saliva y en el fluido gingivo crevicular, la actividad fagocítica de los PMNN y monocitos, y mecanismos defensivos mediados por células. En el caso de la penetración tisular, la protección basada en anticuerpos será más prominente. Una deficiencia en el funcionamiento de cualquiera de estos mecanismos de defensa tiene como efecto la predisposición para desarrollar una infección por *Candida*. Esto se ejemplifica claramente en la alta incidencia de candidiasis oral en individuos VIH positivos y con SIDA.⁽²⁷⁾

Esta enfermedad no es una entidad única. Se describen 4 distintos tipos de candidiasis orales basadas en su presentación clínica: Candidiasis pseudomembranosa, Candidiasis eritematosa aguda, Candidiasis crónica hiperplásica y Candidiasis crónica eritematosa. Otras formas secundarias de candidiasis son: queilitis angular, glositis romboidal media y candidiasis crónica mucocutánea.⁽²⁷⁾

2.3.2 *Candida spp.*

Los microorganismos del género *Candida* pertenecientes al dominio Eucarya, reino *fungi*, son frecuentemente encontrados en la boca de un individuo sano y se considera un residente normal de la microbiota oral.⁽²⁸⁾ En circunstancias normales estos microorganismos actúan como comensales de la mucosa, predominantemente en el tracto gastrointestinal de la mayoría de la población

humana. Aquí, el hongo es controlado por la microbiota normal, la barrera epitelial y el sistema inmune innato.⁽⁵⁰⁾ Sin embargo, por su naturaleza oportunista, es capaz de causar infecciones si existen condiciones relativas al hospedero que las predispongan.⁽⁴⁹⁾

Dentro de la cavidad oral, estos microorganismos comúnmente colonizan la superficie lingual, paladar y la mucosa oral. También pueden colonizar placa subgingival en individuos con periodontitis. Se ha reportado que el número de levaduras en los sacos periodontales es similar al de algunas bacterias periodontopatógenas, lo que sugiere que estas levaduras cumplen un rol en la patogénesis de la enfermedad periodontal.⁽⁵¹⁾

De las especies de *Candida* aisladas en el ser humano, *C. albicans* es la más prevalente y puede causar un amplio espectro de enfermedades que incluyen infecciones a la piel, mucosas y sistémicas.^(49, 50)

Varios potenciales factores de virulencia han sido propuestos en la patogenicidad de las especies de *Candida*, siendo los más importantes la adhesión a las superficies del hospedero, la secreción de proteasas y la formación de hifas.⁽⁴⁹⁾

Para su detección desde muestras orales, generalmente es cultivada en Agar Sabouraud Dextrose, el cual permite el crecimiento de todas las especies de *Candida* orales. Generalmente se incorporan antibióticos para incrementar su selectividad.⁽²⁸⁾

2.3.3 Candidiasis Oral y Síndrome de Down

En relación a candidiasis oral en individuos con SD, se ha reportado que estos pacientes presentan mayor tendencia a desarrollar esta patología. Éstos presentan alteraciones orales anatómo-fisiológicas como macroglosia, estancamiento salival provocado por la hipotonía muscular, dificultades motoras y constantes afecciones respiratorias que los hacen más susceptibles de presentar procesos infecciosos, incluyendo infecciones fúngicas, en donde las especies del género *Candida* son los agentes etiológicos preponderantes.⁽⁹⁾

Sumado a lo anterior, estos individuos muestran funciones anormales en los neutrófilos, linfocitos T y células natural killer; las primeras asociadas con bajas tasas de inmunoglobulinas IgG₂ e IgG₄ y las otras con alteraciones en la superóxido dismutasa, favoreciendo la acción de *Staphylococcus* y *Candida* como agentes infecciosos comunes en la boca.⁽⁵²⁾

Se ha descrito una mayor ocurrencia de levaduras del género *Candida* en individuos con SD y muchas veces vinculados con candidiasis bucal.^(9, 10, 11, 52, 53)

La Candidiasis pseudomembranosa es el cuadro clínico más detectable en niños con esta cromosopatía.⁽⁹⁾ Sin embargo, un estudio no encontró diferencias en el recuento de *Candida* en niños con SD comparados con sus hermanos sin el síndrome.⁽⁴³⁾

Además, se ha reportado que los aislados de *Candida* de niños con SD son altamente proteolíticos y fosfolipolíticos, mostrando una mayor producción de proteínasa y fosfolipasa comparados con niños sin esta cromosopatía.⁽¹¹⁾

Los estudios disponibles evidencian que los individuos con SD presentan anomalías orofaciales, que sumado a deficiencias inmunitarias, los hacen más susceptibles al desarrollo de infecciones orales, las que se presentan por alteraciones en el equilibrio del biofilm oral, esto provoca variaciones en los recuentos de algunos microorganismos. En el caso de estos pacientes, la literatura reporta diferencias en los resultados de los recuentos microbianos, sumado a que la evidencia disponible es escasa y en algunos casos contradictoria.

En base a los antecedentes expuestos, este estudio tiene como objetivo identificar y cuantificar el número de UFC/ml de saliva de *S. mutans*, *Lactobacillus spp.* y *Candida spp.* en niños con SD y compararlos con niños sin este síndrome, para determinar el status oral de estos pacientes mediante algunos parámetros clínicos y microbiológicos a fin de implementar medidas preventivas de acuerdo a las necesidades de estos niños chilenos.

HIPÓTESIS

Los niños con SD presentan un menor recuento de *S. mutans* y *Lactobacillus spp.*, y mayor recuento de levaduras del Género *Candida spp.* que niños sin el síndrome.

OBJETIVO GENERAL

Establecer diferencias entre los recuentos de *S. mutans*, *Lactobacillus spp.* y *Candida spp.* aislados de saliva proveniente de niños con y sin SD.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Obtener parámetros clínicos de los grupos de estudio como edad, Índice de Higiene Oral Simplificado (IHOS) y ceod/COPD.
- 2.- Aislar *S. mutans*, especies de *Lactobacillus* y especies de levaduras del género *Candida* en muestras de saliva provenientes de niños con y sin SD.
- 3.- Identificar especies de *S. mutans*, *Lactobacillus spp.* y *Candida spp.* a partir de los aislados provenientes de muestras de saliva de niños con y sin SD.
- 4.- Cuantificar aislados de *S. mutans*, *Lactobacillus spp.* y *Candida spp.* provenientes de muestras de saliva de niños con y sin SD.
- 5.- Comparar resultados obtenidos a partir de muestras de saliva de niños con SD con resultados obtenidos desde muestras de saliva de niños sin el síndrome.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: Descriptivo, observacional, transversal

Población de estudio: Pacientes de 2 a 18 años con SD, con dentición temporal, dentición mixta I y II fase, dentición permanente. Pacientes sin SD y con las mismas características, atendidos en la Clínica Las Condes.

Criterios de inclusión: Pacientes sin actividad de caries clínicamente, sin terapia antibiótica en los últimos 3 meses antes de la toma de muestra de saliva y no haber usado antisépticos orales durante las 4 últimas semanas. Sin tratamiento de flúor tópico 3 meses previos al estudio.

Criterios de exclusión: Pacientes portadores de aparatos de ortodoncia fijos o removibles. Pacientes no cooperadores con la toma de muestra de saliva. Pacientes con otro síndrome o patología general asociada al Síndrome de Down. Pacientes que no acepten participar en el estudio

Consideraciones éticas: Firma del consentimiento informado por los padres o tutores de los niños menores de 11 años (Anexo nº 3). Firma de asentimiento informado en niños mayores de 11 años. (Anexo nº 4).

Variables a estudiar:

Sexo, edad, tipo de dentición

IHOS

Índice ceod y COPD, para registrar historia de caries

Recuento de *S. mutans*, *Lactobacillus spp.* y *Candida spp.* en saliva

Técnicas a usar

1.- Evaluación clínica

2.- Evaluación microbiológica

1.- EVALUACIÓN CLÍNICA

La evaluación clínica de salud bucal de los niños fue realizada por dos operadores calibrados (Kappa 0.85), bajo firma de consentimiento informado. Se efectuó entre junio de 2013 y febrero de 2014 a pacientes atendidos en el área de odontopediatría de la Clínica Las Condes.

Para el examen clínico se utilizó luz artificial e instrumental básico de examen odontológico (bandeja, sonda curva, espejo intraoral n° 5, pinza biangulada). En este procedimiento se analizó la presencia de placa bacteriana para registrar el IHOS en dientes representativos de las arcadas dentarias: 1.6 - 2.1 - 2.6 - 3.6 - 4.1 - 4.6 con la modificación que si no estaban en boca, se reemplazaron por dientes primarios. Los datos se registraron en una ficha diseñada especialmente para el estudio (Anexo nº2). Además se registró los índices ceod y COPD, para conocer la historia de caries de cada paciente.

2.- EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA

Toma de las muestras

Se recolectó de cada niño, 1-2 ml de saliva completa (no estimulada) en un tubo Falcon estéril de 50 ml y se mantuvo a 4°C para su procesamiento en el laboratorio. Las muestras microbiológicas fueron trasladadas antes de 3 hrs. al Laboratorio de Microbiología Bucal (Facultad de Odontología de la Universidad de Chile) para ser procesadas.

Procesamiento de las muestras

a.- Aislamiento

La muestra de saliva fue homogeneizada en Vortex mixer durante 45 seg., realizando luego una dilución seriada en PBS (buffer fosfato salino) pH 7.4, estéril.

Para la detección de *S. mutans* se sembró 100 µl de las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} en Agar TYCSB (bacitracina: 0,1 UI/ml de medio). En el caso de *Lactobacillus spp.* se sembró 100 µl de las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} en Agar MRS® y para levaduras del género *Candida* se sembró 100 µl de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} en Agar Sabouraud más cloramfenicol (0,5 mg/ml de medio).

Las placas con agar TYCSB y MRS® fueron incubadas por 48 hrs. a 37°C en ambiente capnófilico (CO₂ 5%) y las placas con agar Sabouraud por 48 hrs. a 35°C en condiciones de aerobiosis.

b.- Identificación

S. mutans se detectó por análisis macroscópico de la colonia, seleccionando colonias redondeadas, que no disgregan, adherentes y con aspecto de vidrio esmerilado. Se diferenció de *S. sobrinus* mediante pruebas bioquímicas basadas en la fermentación de 3 distintos azúcares.

Lactobacillus spp. se cultivó en medio selectivo a pH 4.5 detectándose colonias puntiformes, blancas y cremosas las que se seleccionaron y se identificaron por baterías comerciales API (Biomérieux).

Para detectar especies del género *Candida* se sembraron levaduras en agar Sabouraud para luego identificar el género *Candida* en agar selectivo Chromocandida® (Lab. LINSAN) que a su vez es indicador de algunas especies dentro del género.

c.- Recuento

Se evaluó la presencia y no presencia *S. mutans*, *Lactobacillus spp.* y *Candida spp.*, y se midieron los niveles de éstos mediante el recuento en placa de cada microorganismo con el uso de lupa estereoscópica. Para expresar en unidades formadoras de colonias por ml de saliva (UFC/ml) se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{N}^{\circ} \text{ colonias} / \text{Factor de Dilución} \times \text{Volumen Plaqueado}$$

Análisis Estadístico

Cálculo del Tamaño muestral:

La hipótesis del estudio es a una cola porque apuesta que existirá una diferencia de un 33% más patología oral entre los niños con SD y los sin SD. Por lo tanto el error alfa debe ser de un 2.5% y una potencia del estudio de un 80%, da un cálculo de tamaño muestral de 25 pacientes por grupo. En consecuencia para que haya significancia estadística p tendrá que ser <0.025 .

Se realizó la estadística descriptiva de las variables predictoras y la variable efecto en ambos grupos. Para cada una de las variables numéricas (edad, IHOS, COPD/ceod, *S. mutans*, *Lactobacillus spp.* y *Candida spp.*) se procedió a aplicar un test de normalidad, con el propósito de saber si la variable presenta una distribución Normal o no.

Se utilizó la prueba Shapiro-Wilk donde la hipótesis nula es que la muestra sí sigue una distribución normal. Si el p -valor obtenido es menor o igual a 0,025 la hipótesis nula se rechaza y se concluye que la muestra no sigue una distribución normal; por el contrario si el p -valor obtenido es mayor a 0,025 se acepta la hipótesis nula y se concluye que la muestra sí sigue una distribución normal.

Con el fin de determinar si existía diferencia estadísticamente significativa entre los 2 grupos de la variable efecto (con y sin SD) para cada una de las variables predictoras, se procedió a aplicar determinados test de contraste de medias. El tipo de test a aplicar dependía de los resultados obtenidos en los test de normalidad. Para la variables que tuvieran una distribución normal se emplearía el

test de contraste paramétrico t-Student. En el caso de no poseer una distribución normal se utilizaría el test de contraste no paramétrico U de Mann-Whitney. Cabe mencionar que las pruebas se realizaron en el programa estadístico SPSS versión 19.

RESULTADOS

Test de normalidad

Al aplicar el test de Shapiro-Wilk para conocer la distribución de las variables, los resultados fueron los siguientes (Tabla n°1):

Tabla N°1 Se observan los resultados luego de la aplicación del test Shapiro-Wilk para las pruebas de normalidad.

Shapiro-Wilk	p
EDAD	,000
IHOS	,001
<i>S. mutans</i>	,000
<i>Lactobacillus</i>	,000
<i>Candida</i>	,000
COPD	,000
Ceod	,000

De este modo se observa que para todas las variables el p-valor es menor a 0,025. Por tanto se concluye que ninguna de las variables presenta distribución normal (poseen una distribución de probabilidad desconocida). Por este motivo se aplicó el test de contraste no paramétrico U de Mann-Whitney.

Perfil de las poblaciones de estudio

Se estudió un total de 50 pacientes, 25 de ellos afectados por SD y 25 sanos sistémicamente. En relación a la distribución por sexo, 13 controles correspondieron al sexo masculino y 12 al femenino, mientras que en los afectados por el síndrome 18 de ellos eran hombres y 7 mujeres.

Edad

La edad promedio de la población en estudio fue de $8,3 \pm 3,96$ D.E., con un mínimo de 2 años y un máximo de 17 años.

No existieron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo en estudio para la variable edad, con un valor $p > 0,025$. (Tabla N° 2)

Tabla N°2 valores promedios, mínimos y máximos para edad en niños con y sin SD.

SD				Sin SD			
Min.	Max.	Media	DE	Min.	Max.	Media	DE
2	17	7,68	3,93	4	17	8,92	3,97
$p = 0,232$							

Índice de Higiene Oral Simplificado

La evaluación del Índice de IHOS demostró que todos los participantes del estudio presentaban placa bacteriana adherida a la superficie dentaria, sin embargo ninguno de los participantes en el estudio obtuvo valores mayores a 3, es decir ninguno presentó niveles deficientes en relación a este índice (Tabla N°3).

Tabla N°3 Muestra el grado de higiene oral en ambos grupos. Nótese que el mayor porcentaje de los pacientes presentaron niveles aceptables de higiene oral.

Nivel de higiene oral	Pacientes SD n (%)	Controles n (%)
Adecuado (IHOS = 0,0-1,2)	9 (36)	6 (24)
Aceptable (IHOS = 1,3-3,0)	16 (64)	19 (76)
Deficiente (IHOS = 3,1-6,0)	0	0

El valor promedio del total de la población en estudio de $1,41 \pm 0,44$ D.E., con un valor mínimo de 0,5 y un máximo de 2,5. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos para el IHOS con un valor $p > 0,025$ (Tabla n° 4)

Tabla N°4 valores promedios, mínimos y máximos para IHOS en niños con y sin SD.

SD				Sin SD			
Min.	Max.	Media	DE	Min.	Max.	Media	DE
0,5	2,7	1,4	0,4	0,5	2,5	1,42	0,5
$p = 0,937$							

Historia de caries

El valor promedio del índice ceod para el total de la población fue de $0,59 \pm 1,3$ DE, y para el índice COPD fue $0,59 \pm 1,53$ DE. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para ambos índices con un valor $p > 0,025$ (Tablas nº 5 y 6).

Tabla N°5 valores promedios, mínimos y máximos para el índice ceod en niños con y sin SD

SD				Sin SD			
Min.	Max.	Media	DE	Min.	Max.	Media	DE
0	4	0,53	1,07	0	6	0,67	1,53
$p = 0,903$							

Tabla N°6 valores promedios, mínimos y máximos para el índice COPD en niños con y sin SD

SD				Sin SD			
Min.	Max.	Media	DE	Min.	Max.	Media	DE
0	5	0,91	2,02	0	4	0,38	1,09
$p = 0,576$							

Identificación y Recuento de *Streptococcus mutans*

A partir de las muestras de saliva se pudo aislar e identificar micromorfológicamente (Fig. nº 1) y macromorfológicamente (Fig. nº 2 y 3) *S. mutans* en 28 pacientes, de las cuales 16 correspondían a controles y 12 a niños con SD.

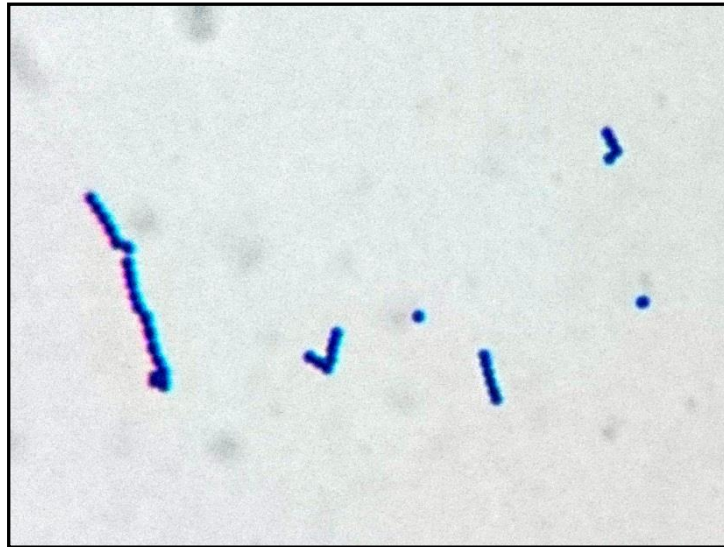


Fig. Nº 1 Frotis y tinción Gram realizado a partir de cultivo de *S. mutans* en caldo Tryptic Soy Broth (TSB)

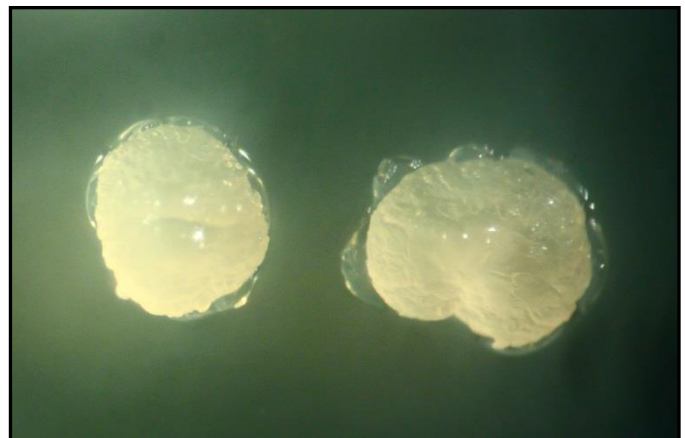
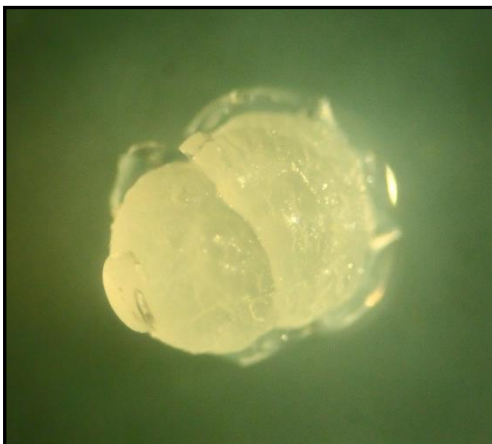


Fig. Nº 2 y 3 Colonias de *S. mutans* en agar TYCSB. Colonias de forma redondeada, superficie rugosa, adherentes y con aspecto de vidrio esmerilado.

Identificación bioquímica:

Para diferenciar entre *S. mutans* y *Streptococcus sobrinus*, se utilizaron las pruebas de hidrólisis de Esculina y la fermentación de Rafinosa y Melobiosa, siendo positivas para todos los aislados, por lo tanto no se detectó la presencia de *S. sobrinus* (Fig. nº 4).



Fig. Nº 4 (M) Tubo con Melobiosa luego de la adición de rojo fenol. (R) Tubo con Rafinosa luego de la adición de rojo fenol. (E) Tubo con Esculina luego de la adición de citrato férrico amoniacal.

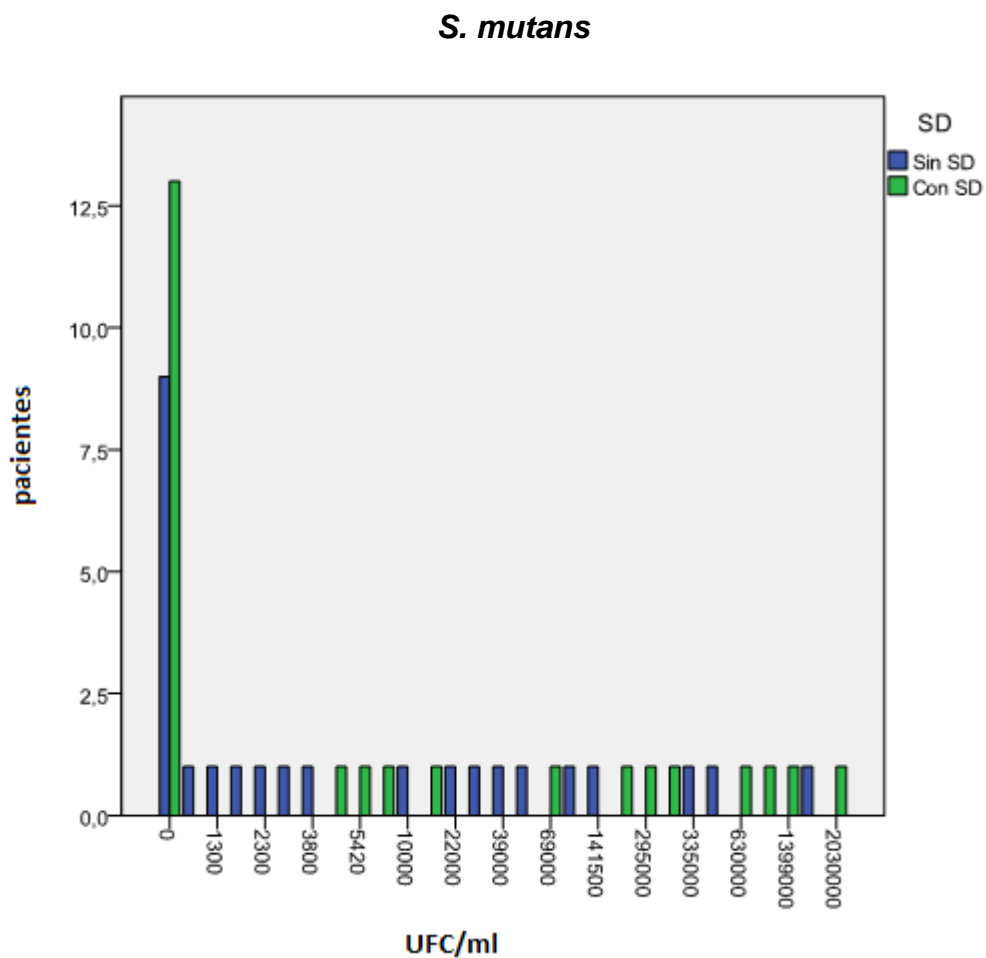
En relación al recuento *S. mutans*, en el total de la población en estudio se obtuvo un promedio de $1,8 * 10^5$ UFC/ml \pm 4, $38 * 10^5$ D.E.

Al aplicar el test U de Mann-Whitney se obtuvo un valor $p > 0,025$, por lo que se concluyó que el nivel de *S. mutans* era similar en ambos grupos (Tabla nº 7), a pesar de que los mayores niveles se observaron en el grupo con SD. (Gráfico nº1)

Tabla Nº 7 recuentos promedios, mínimos y máximos de *S. mutans* en niños con y sin SD

SD				Sin SD			
Min.	Max.	Media	DE	Min.	Max.	Media	DE
0	$2,03 * 10^6$	$2,47 * 10^5$	$5,31 * 10^5$	0	$1,47 * 10^6$	$1,12 * 10^5$	$3,15 * 10^5$
p = 0,839							

Además solo 3 pacientes del grupo SD presentaron recuentos $> 10^6$ UFC/ml y sólo 1 en el grupo control.

Gráfico Nº 1 Distribución de niños con y sin SD según el recuento de *S. mutans*

Identificación y recuento de *Lactobacillus spp.*

Lactobacillus spp. se identificó y aisló según micromorfología celular (Fig. nº 5) y macromorfología colonial (Fig. nº6) en 48 pacientes, 23 pacientes del grupo con SD y 25 pacientes del grupo control.

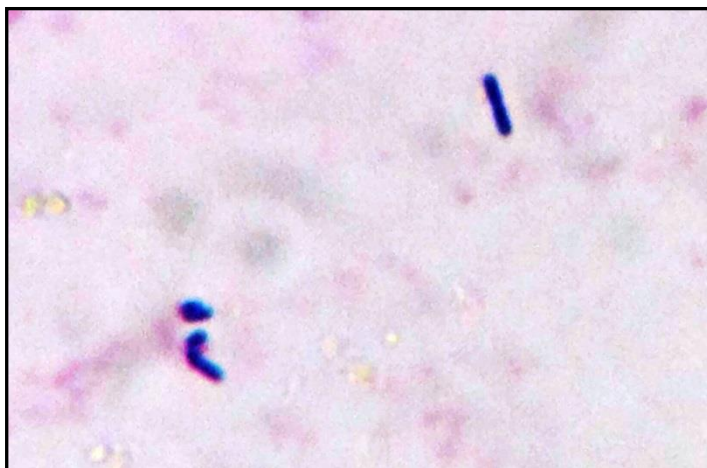


Fig. Nº 5 Frotis y tinción de Gram realizado a partir de cultivo de *Lactobacillus* en caldo TSB



Fig. Nº 6 Colonias de *Lactobacillus* en agar MRS. Se observan colonias puntiformes, blanquecinas, de superficie lisa, brillante y cremosa.

Identificación:

Para su identificación se utilizaron baterías comerciales API (Biomérieux), dando como resultado que los aislados pertenecían al género *Lactobacillus* spp., pero no se pudo identificar una especie en particular (Fig. nº 7).

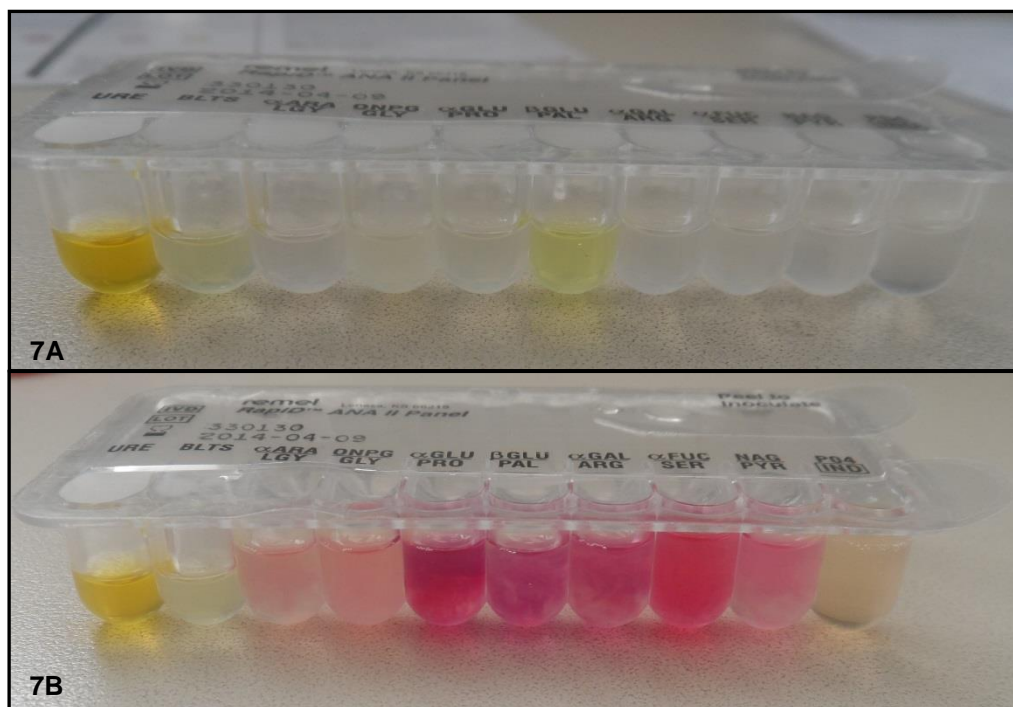


Fig. Nº 7A Lectura de API luego de 4 hrs de incubación en aerobiosis a 37°C. **7B** Lectura luego de aplicación de los reactivos RapID ANA II y RapID Spot Indole

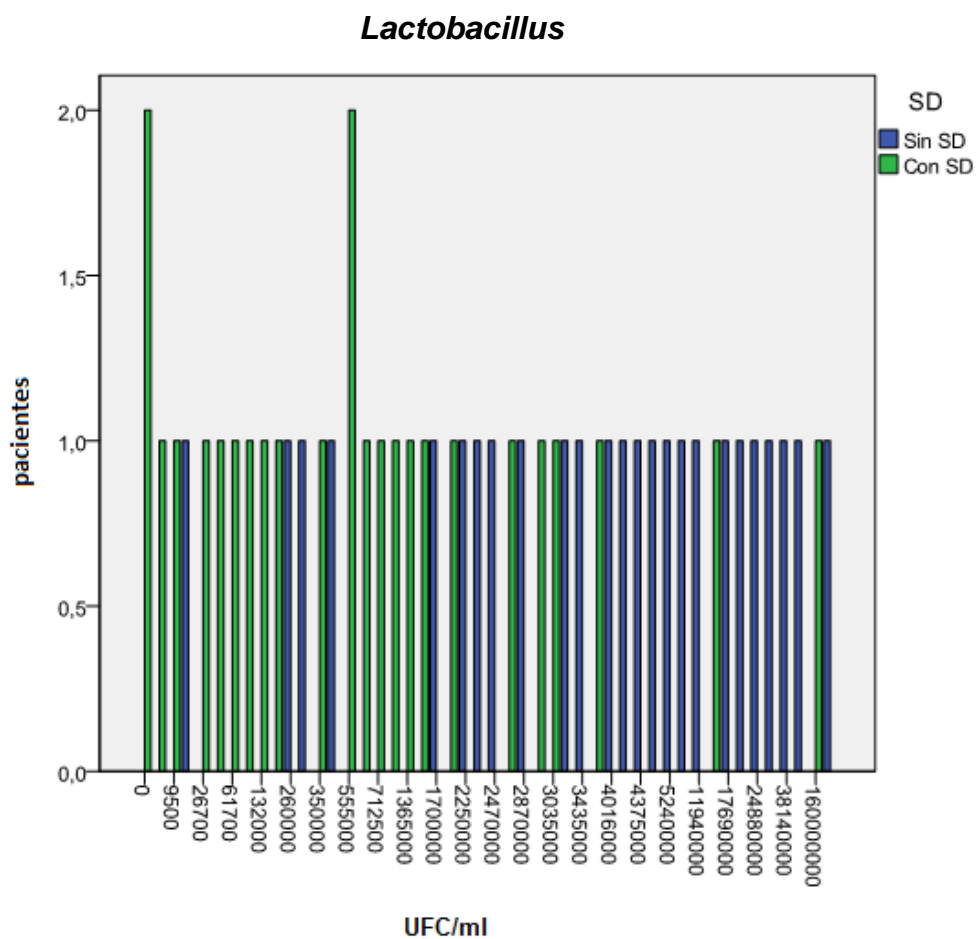
Con respecto al recuento de los aislados de *Lactobacillus*, el promedio para el total de la población fue de $1,37 * 10^7$ UFC/ml $\pm 4,01 * 10^7$ D.E.

Al aplicar el test U de Mann Whitney para esta variable se obtuvo un valor para $p < 0,025$ existiendo diferencias estadísticamente significativa entre ambos grupos (Tabla nº 8).

Tabla N° 8 recuentos promedios, mínimos y máximos de *Lactobacillus* en niños con y sin SD

SD				Sin SD			
Min.	Max.	Media	DE	Min.	Max.	Media	DE
0	$1,6 * 10^8$	$7,83 * 10^6$	$3,18 * 10^7$	10^4	$2,32 * 10^8$	$1,96 * 10^7$	$4,69 * 10^7$
p = 0,000							

Así, para el grupo de niños sin SD se observa un nivel visiblemente mayor de *Lactobacillus* que en el grupo de niños con SD (Gráfico n°2).

Gráfico N° 2 Distribución de los niños con y sin SD según recuento de *Lactobacillus*.

Identificación y recuento de *Candida spp.*

El análisis de detección según micromorfología celular (Fig. 8) y macromorfología colonial (Fig. 9) mostró la presencia de estos microorganismos en 22 pacientes, encontrándose presente en 5 pacientes del grupo control y 17 del grupo con SD.

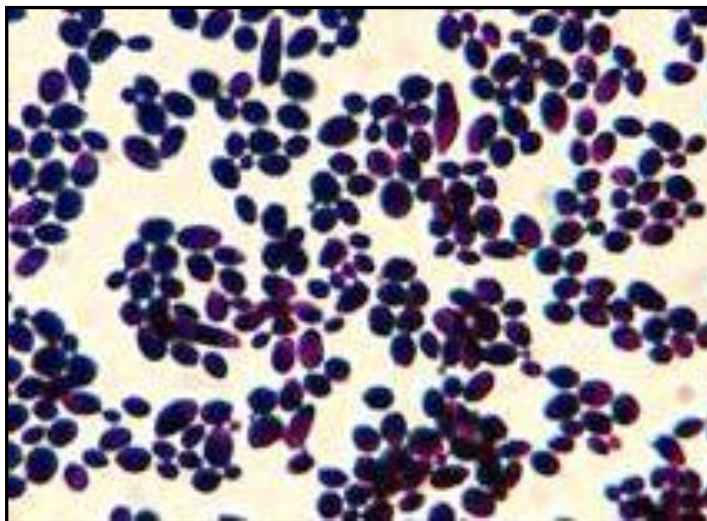


Fig. 8 Frotis y tinción de Gram realizado a partir de cultivo de levaduras del género *Candida* en agar Sabouraud



Fig. 9 Colonias de levaduras del género *Candida* en agar Sabouraud. Se puede apreciar colonias redondas de gran tamaño, se superficie blanquecina y consistencia cremosa.

Identificación:

Para su identificación, los aislados fueron sembrados en agar selectivo Chromocandida® (Lab. LINSAN), el cual permite la diferenciación mediante la pigmentación de la colonia, producidos por reacciones enzimáticas especie-específicas con un sustrato cromógeno contenido en el medio. Así para *C. albicans* se desarrollan colonias de color verde, *Candida glabrata* colonias de color rosa intenso a rojo, *Candida krusei* colonias de color rosa, *Candida parapsilosis* colonias de color blanco-marfil y *Candida tropicalis* colonias de color azul-violáceo.

Los aislados de levaduras fueron incubados a 35° C en aerobiosis por 24 hrs. El 100 % de los aislados fueron identificados como *C. albicans* (Fig. nº10).

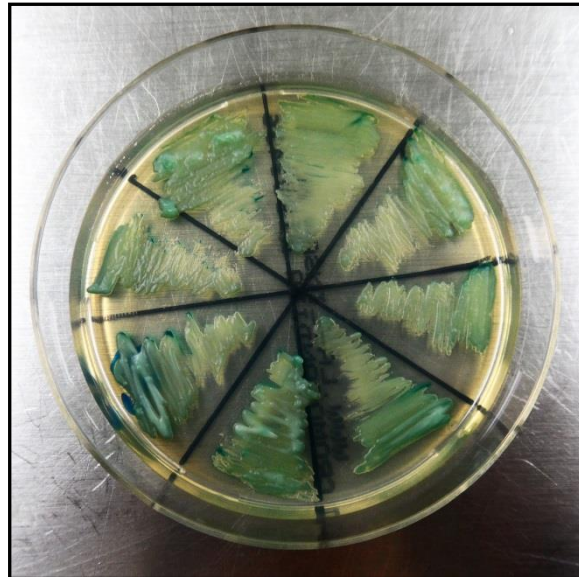


Fig. Nº 10 Resiembra de colonias de levadura, seleccionadas del cultivo en agar Sabouraud, en agar Chromocandida® (Lab. LINSAN). Se observa cultivo con coloración verde identificando la especie *Candida albicans*.

En relación al recuento de los aislados de *C. albicans*, el promedio para el total de los pacientes fue de $5,36 * 10^3$ UFC/ml $\pm 2,08 * 10^4$ D.E.

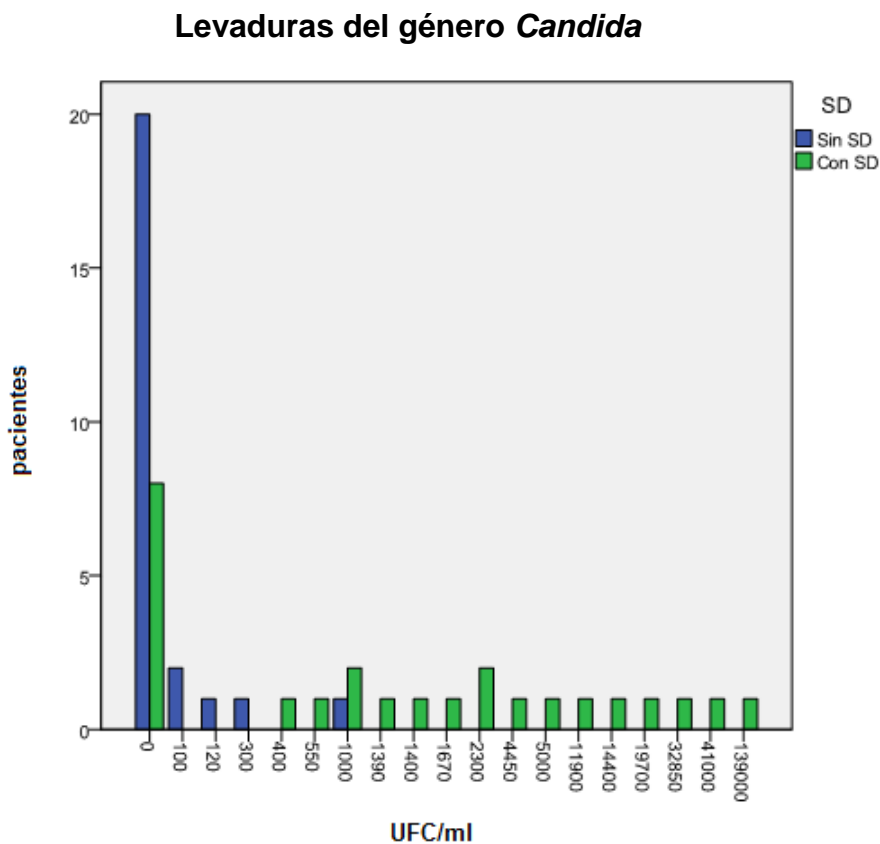
Al aplicar el test U de Mann-Whitney se obtuvo un valor $p < 0,025$, concluyendo que el nivel de *Candida* difiere estadísticamente entre ambos grupos (Tabla nº 9).

Tabla Nº 9 recuentos promedios, mínimos y máximos de levaduras del género *Candida* en niños con y sin SD

SD				Sin SD			
Min.	Max.	Media	DE	Min.	Max.	Media	DE
0	$1,39 * 10^5$	$1,12 * 10^4$	$2,86 * 10^4$	0	$1 * 10^3$	$6,5 * 10^1$	$2,06 * 10^2$
p = 0,000							

Así, para el grupo de niños con SD se obtuvo niveles de levaduras del género *Candida* en saliva mayores que en el grupo control (Gráfico nº3)

Gráfico Nº 3 Distribución de niños con y sin SD según recuentos de levaduras del género *Candida*



DISCUSIÓN

Los hallazgos del presente estudio en relación a la experiencia de caries muestran índices menores que los reportados en población general a nivel internacional (a los 12 años un promedio COPD de 0,7 en Alemania e Italia, 1,75 en Estados Unidos, 2,8 en Brasil) y nacional con un promedio de 1,9 a los 12 años.⁽⁵⁴⁾

En relación a la experiencia de caries en niños con SD comparados con niños sin el síndrome, este estudio no encontró diferencias entre ambos grupos, resultados que difieren con anteriores reportes donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación a los índices ceod y COPD. Algunos autores han reportado menor experiencia de caries en estos niños en comparación con un grupo control. Dadidovich et al. encontraron índices ceod y COPD significativamente menores en pacientes con SD que en pacientes sin el síndrome,⁽⁵⁵⁾ similar a los reportes de Aerias et al., quienes además encontraron que un gran porcentaje no presentaba caries en relación al grupo control.⁽⁴²⁾ Por el contrario, Quijano et al. reportaron mayor experiencia de caries en niños con SD (ceod=4,36) que los niños sin la cromosomopatía (ceod=1,76). Resultados similares a los de Hernández et al. quienes en una muestra de niños mexicanos del estado de Yucatán, de 4 a 6 años de edad, encontraron un ceod promedio de 4,16.⁽⁴⁸⁾ Sin embargo, cabe mencionar que los niños participantes en este estudio estaban clínicamente libres de caries, por lo que se obtuvieron promedios para los índices ceod y COPD menores a 1 en ambos grupos, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Incluso, el 72% de los pacientes con SD y el 76% de los pacientes del grupo control presentaron COPD/ceod = 0, es decir sin historia de caries. Esto podría ser explicado porque estos pacientes pertenecen a un nivel socio económico medio-alto, además de estar sujetos a controles odontológicos sistemáticos. En los reportes realizados en nuestro país se ha observado en forma constante una mejor salud bucal en niveles socio económico altos en comparación con niveles más bajos, e incluso, en la población más acomodada los índices de salud bucal son comparables con los de países desarrollados.⁽⁵⁶⁾

En relación al IHOS nuestros resultados concuerdan con anteriores reportes donde no se encontraron diferencias significativas entre el grupo afectado con SD y el grupo control.⁽⁴¹⁾

En relación a los recuentos microbianos, pocos estudios han evaluado el número de estos microorganismos en saliva de niños con SD. En el caso de *S. mutans*, algunos autores han encontrados menores niveles de estas bacterias en niños con SD,⁽⁴³⁾ a diferencia de otros reportes que han encontrado mayores niveles de *S. mutans* en niños con SD comparados con niños sanos.^(44, 57)

Los resultados de este reporte no muestran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos analizados, a pesar de que en promedio el mayor nivel de *S. mutans* fue encontrado en el grupo SD. Esto concuerda con los reportes realizados por Cogulu et al. quienes tampoco encontraron diferencias significativas entre los recuentos de estos microorganismos en saliva para ambos grupos.⁽⁵⁸⁾ Por otro lado, Stabholz et al. encontraron niveles reducidos de estas bacterias en individuos con SD comparados con individuos sanos, pero también sin significancia estadística.⁽⁵⁹⁾

En relación al recuento de *Lactobacillus*, los resultados obtenidos en el total de los niños participantes en esta investigación son mayores que otros reportes en población infantil y adulta.^(54, 60) Además este estudio encontró niveles mayores de estos microorganismos en el grupo control comparado con el grupo afectado por SD, a diferencia de reportes realizados por otros autores quienes no hallaron diferencias entre ambos grupos.^(43, 44) Se ha descrito que el recuento en saliva de *Lactobacillus* pareciera ser el reflejo del consumo de hidratos de carbono por parte del hospedero,⁽²⁷⁾ por lo tanto la diferencia entre ambos grupos pudiese ser debido a una dieta más cariogénica en el grupo de niños sin el síndrome. Esto podría ser debido a que los pacientes con SD tienen mayor tendencia a desarrollar sobrepeso y obesidad, no necesariamente por la dieta, sino que por un metabolismo basal reducido, por lo que ellos muchas veces son más controlados y están bajo supervisión dietética constante, teniendo por tanto una dieta reducida en hidratos de carbono.⁽⁶¹⁾ Cabe mencionar que la mayor parte de las muestras

presentaron recuentos de *Lactobacillus* $>10^4$, lo que se interpreta como alto riesgo de caries.⁽⁶²⁾

Con respecto al recuento de *Candida*, existen muy pocos estudios que evalúen su presencia en población con SD, pero en casi todos se han encontrado mayores niveles de estos microorganismos en individuos con el síndrome.^(9, 10, 11, 52, 53)

En este reporte existieron diferencias estadísticamente significativas para el recuento de *Candida spp.*, encontrándose la presencia de estos microorganismos en el 68% de los niños con SD y en el 20% de los niños del grupo control, además el 100% de los aislados resultó ser *C. albicans*. Estos resultados son similares a los de Ribeiro et al. quienes reportaron la presencia de *C. albicans* en el 87,5% del grupo SD y solo en el 12,5% del grupo control.⁽⁵⁵⁾

Sin embargo, la mayoría los estudios disponibles solo refieren la presencia de estos microorganismos en estos niños de manera cualitativa, sin referirse a los niveles de levaduras del género *Candida* presentes en estos pacientes. Solamente Aerias et al. realizó los recuentos de estos microorganismos en niños con SD, no encontrando diferencias con el grupo control.⁽⁴³⁾

Además, en relación a los recuentos de estos microorganismos, se ha descrito que estos individuos presentan mayor riesgo de desarrollar patologías de origen fúngico, como candidiasis bucal, debido a los mayores niveles de *Candida* detectados en estos pacientes.^(9, 52) Asimismo, dentro de los factores locales que influyen en el desarrollo de esta patología se encuentran malformaciones craneofaciales e hiposalivación,⁽⁶²⁾ y ha sido ampliamente reportado que los niños con SD presentan hipoplasia del tercio medio facial que se asocia con deformaciones en el paladar, senos paranasales, y prognatismo.^(7, 13) Sumado a esto, la literatura también ha reportado que estos individuos tienen tasas de flujo salival significativamente menores que los individuos sin el síndrome.⁽⁶³⁾

Por otro lado, se ha estudiado la producción de proteínasa y fosfolipasa de cepas de *Candida* aisladas de niños con SD. Estas enzimas son un factor de virulencia ya que favorecen la adhesión de la *Candida* por la penetración de tubos germinativos en el tejido infectado. Se ha reportado que las cepas de *Candida*

aisladas desde niños con SD son altamente proteolíticas y fosfolipolíticas, mostrando además una mayor producción de proteinasa y fosfolipasa comparados con cepas aisladas desde niños sin esta cromosomopatía.⁽¹¹⁾

CONCLUSIONES

Como se ha descrito anteriormente, los individuos con SD están particularmente expuestos a patologías infecciosas en la cavidad oral por causa de su inmunodepresión y sus anomalías anatómicas y fisiológicas. Por lo mismo, este reporte buscaba comparar su estatus clínico y microbiológico con pacientes no afectados por el síndrome.

Así, este estudio concluye que no existen diferencias entre niños con SD y niños sin SD con respecto al índice de higiene oral. También reveló que no existen diferencias en relación al recuento saliva de *S. mutans* ya que estos fueron similares en ambos grupos.

Sin embargo, el estudio reveló que ambos grupos presentan alto riesgo de caries en relación al recuento de *Lactobacillus*. Además, existen diferencias significativas entre ambos grupos, siendo los niños sin SD quienes poseen mayores niveles de estos microorganismos en saliva.

Por otro lado, los resultados de este estudio revelaron diferencias significativas en la ocurrencia de *C. albicans* en niños con SD, presentando niveles superiores en este grupo que en el grupo de niños sin SD. Esta diferencia sugiere que los individuos con SD presentan mayor riesgo de desarrollar patologías fúngicas orales y sistémicas asociadas a *Candida*, por lo que es importante que estos pacientes mantengan medidas preventivas odontológicas permanentes, dirigidos a controlar el número de estos microorganismos en la cavidad oral.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Fryers T. Survival in Down syndrome. *J Ment Defic Res.* 1986 30:101-10
- 2 Desai SS. Down Syndrome: A Review of the Literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997 Sep;84(3):279-85
- 3 Nazer J, Cifuentes L. Estudio epidemiológico global del síndrome de Down. *Rev Chil Pediatr* 2011; 82 (2): 105-112
- 4 Agarwal Gupta N, Kabra M. Diagnosis and Management of Down Syndrome. *Indian J Pediatr* (June 2014) 81(6); 560-567
- 5 Patterson D. Genetic mechanisms involved in the phenotype of Down syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2007;13:199–206.
- 6 Henderson A, Lynch SA, Wilkinson S, Hunter M. Adults with Down's syndrome: the prevalence of complications and health care in the community. *Br J Gen Pract* 2007;57:50-5
- 7 Hennequin M, Faulks D, Veyrune JL, Bourdiol P. Significance of oral health in persons with Down syndrome: a literature review. *Dev Med Child Neurol.* 1999 Apr;41(4):275-83
- 8 Macho V, Palha M, Macedo A , Ribeiro O, Andrade C. Comparative study between dental caries prevalence of Down syndrome children and their siblings. *Spec Care Dentist* 33(1): 2-7, 2013
- 9 Vieira JD, Ribeiro EL, Campos CC, Pimenta FC, Toledo OA, Nagato GM, et al. *Candida albicans* isolated from buccal cavity of children with Down's syndrome: occurrence and growth inhibition by *Streptomyces* sp. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005; 38, 383-386
- 10 Caslstedt K, Krekmanova L, Dahloff G, Ericsson B, Braathen G, Modeer T. Oral carriage of *Candida* species in children and adolescents with Down's syndrome. *Int J Paediatr Dent.* 1996;6(2):95-100

- 11 Ribeiro E, Scroferneker M, Cavalhaes M, Campos C, Nagato G, Souza N, et al. Phenotypic aspects of oral strains of *Candida albicans* in children with down's síndrome. *Braz. J. Biol.*, 66(3): 939-944, 2006
- 12 López P, López R, Parés G, Borges A, Valdespino L. Reseña histórica del síndrome de Down. *Revista ADM* 2000;LVII(5):193-199
- 13 Cheng R, Yiu C, Leung K. Oral Health in individuals with Down's Syndrome, Prenatal Diagnosis and Screening for Down Syndrome, Prof. Subrata Dey (Ed.), ISBN: 978-953-307-355-2, InTech. 2011. Disponible en <http://www.intechopen.com/books/prenatal-diagnosis-and-screening-for-down-syndrome/oral-health-in-individuals-with-down-syndrome>
- 14 Roper RJ, Reeves RH. Understanding the Basis for Down Syndrome Phenotypes. *PLoS Genet.* 2006 March; 2(3): e50
- 15 Abanto J, Ciamponi A, Francischini E, Murakami C, DDS, Medeiros de Rezende N, Gallottini M. Medical problems and oral care of patients with Down syndrome: a literature review. *Spec Care Dentist* 31(6): 197-203, 2011
- 16 Ondarza A, Jara L, Muñoz P, Blanco R. Sequence of eruption of deciduous dentition in a Chilean sample with Down's Syndrome. *Archs oral Biol.* Vol. 42, No. 5, pp. 401-406, 1997
- 17 Tanaka Y, Abiko Y, Mega J. The relationship between premature ageing and immune responses in the oral cavity of Down syndrome. *Japanese Dental Science Review.* 2010; 46, 78-85
- 18 Page RC, Schroeder HE. Current status of the host response in chronic marginal periodontitis. *J Periodontol.* 1981 Sep;52(9):477-91
- 19 Izumi Y, Sugiyama S, Shinozuka O, Yamazaki T, Ohyama T, Ishikawa I. Defective neutrophil chemotaxis in Down syndrome patients and its relationship to periodontal destruction. *J Periodontol* 1989; 60:238-242

- 20 Moder T, Barr M, Dahllof G. Periodontal disease in children with Down syndrome. Scand J Dent Res 1990;98:228-234
- 21 Reuland-Bosma W, Van Dijk LJ. (1986) Periodontal disease in Down syndrome: a review. Journal of Clinical Periodontology 13: 64–73
- 22 Shang X, Huang Y, Chen H, Sun R. Prevalence of dental caries among preschool children in Shanghe County of Shandong Province and relevant prevention and treatment strategies. Chin Med J 2008; 121 (22): 2246-2249
- 23 Rojas R, Camus M. Estudio Epidemiológico de las Caries Según Índice c.e.o.d y C.O.P.D. en Preescolares y Escolares de la Comuna de Río Hurtado, IV Región. Revista Dental de Chile, 2001; 92 (1): 17-22
- 24 The world oral health report 2003. Geneva WHO; 2003. Disponible online en : http://www2.paho.org/hq/dmdocuments/2009/OH_st_WHO.pdf
- 25 Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral healthcare." Caries Res 2004;38:182-191
- 26 Wolff D, Frese C, Maier-Kraus T, Krueger T, Wolff B., Bacterial Biofilm Composition in Caries and Caries-Free Subjects. Caries Res. 2012 Nov 9;47(1):69-77
- 27 Moncada G, Urzúa I. Cariología Clínica, Bases Preventivas y Restauradoras. 1ª Edición Editorial Paola Nelly, 2008. cap.3 p.51-72
- 28 Marsh PD, Martin MV. Oral Microbiology. 5ª ed. Editorial Churchill Livingstone, 2009. cap 5 p. 74-85, cap 9 p. 166-172
- 29 Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The Microbiology of Primary Dental Caries in Humans. J Dent Educ. 2001 Oct;65(10):1028-37
- 30 Pérez J, Duque de Estrada J, Hidalgo I. Asociación del *Streptococcus mutans* y *Lactobacilos* con la caries dental en niños. Rev Cubana Estomatol 2007; v.44 n.4

- 31 Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J.* 2000 Dec;45(4):235-45
- 32 Wan A, Seow W, Walsh L, Bird P. Comparison of five selective media for the growth and enumeration of *Streptococcus mutans*. *Australian Dental Journal* 2002;47:(1):21-26
- 33 Jordan, H. Laraway, R. Snirch, R. Marmel, M. "A simplified diagnostic system for cultural detection and enumeration of *Streptococcus Mutans*." *J Dent Res* 1987; 66:57-61
- 34 Newbrun E. Preventing dental caries: breaking the chain of transmission; *J. Am. Dent. Assoc.* 123, 1992, 55-59
- 35 Badet C, Thebaud NB. Ecology of Lactobacilli in the Oral Cavity: A Review of Literature. *Open Microbiol J.* 2008; 2: 38–48
- 36 Man, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, M.E. (1960). A Medium for the Cultivation of Lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.*, 23 (1), 130
- 37 Signoretto C, Burlacchini G, Faccioni F, Zanderigo M, Bozzola N, Canepari P. Support for the role of *Candida* spp. in extensive caries lesions of children. *New Microbiol.* 2009 Jan;32(1):101-7
- 38 Branting C, Sund ML, Linder LE. The influence of *Streptococcus mutans* on adhesion of *Candida albicans* to acrylic surfaces in vitro. *Arch Oral Biol.* 1989;34(5):347-53
- 39 Linossier A, Vargas A, Villegas R, Chimenos E. Relación cuantitativa entre el nivel de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* en niños con síndrome de Down. *Medicina Oral* 2002; 7: 284-92
- 40 Fiske J, Shafik H. Down's syndrome and oral care. *Dent. Update.* 2001; 28(3):148-56

- 41 Lee SR, Kwon HK, Song KB, Choi YH. Dental caries and salivary immunoglobulin A in Down syndrome children. *J. Paediatr. Child. Health.* 2004; 40(9- 10):530-3
- 42 Areias C, Sampaio-Maia B, Guimaraes H, Melo P, Andrade D. Caries in Portuguese children with Down síndrome. *CLINICS* 2011;66(7):1183-1186
- 43 Areias C, Sampaio-Maia B, Pereira ML, Azevedo A, Melo P, Andrade C, et al. Reduced salivary flow and colonization by mutans streptococci in children with Down syndrome. *Clinics.* 2012;67(9):1007-1011
- 44 Mathias MF, Simionato MR, Guare RO. Some factors associated with dental caries in the primary dentition of children with Down syndrome. *Eur J Paediatr Dent.* 2011;12(1):37-42
- 45 Shyama M, Al-Mutawa SA, Morris RE, Sugathan T, Honkala E. Dental caries experience of disabled children and young adults in Kuwait. *Community Dent. Health,* 2001; 18(3):181-6
- 46 Freire de Castillo AR, Pardi V, Ferreira CV. Caries Prevalence, Level of Mutans Streptococci, Salivary Flow Rate, and Buffering Capacity in Subjects with Down Syndrome. *Braz J Oral Sci.* 2007; 6(21):1331-1336
- 47 Al-Khadra T. Prevalence of dental caries and oral hygiene status among down's syndrome patients in Riyadh – Saudi Arabia. *Pakistan Oral & Dental Journal* Vol 31, No. 1 (June 2011)
- 48 Quijano GM, Díaz-Pizán, ME. Caries dental en niños pre-escolares con síndrome de Down. *Rev Estomatol Herediana* 2005; 15(2): Rev Estomatol Herediana 2005; 15 (2) : 128 - 132
- 49 Williams D, Kuriyama T, Silva S, Malic S, Lewis M. *Candida* biofilms and oral candidosis: treatment and prevention. *Periodontology* 2000, Vol. 55, 2011, 250–265
- 50 Gow NA, Hube B. Importance of the *Candida albicans* cell wall during commensalism and infection. *Curr Opin Microbiol.* 2012 Aug;15(4):406-12

- 51 Sardi J, Duque C, Mariano F, Peixoto I, Höfling, Gonçalves R. *Candida spp.* In periodontal disease: a brief review. Journal of Oral Science, Vol. 52, No. 2, 177-185, 2010
- 52 Ribeiro EL, Campos CC, Carvalhaes MS, Cardoso CG, Ferreira WM, Lima MM, et al. Buccal *Candida albicans* in children with Down's syndrome: prevalence and in vitro susceptibility to antifungal drugs by E-test® ribbons method. RBAC. 2011;43(3):189-91
- 53 Ribeiro E, De Castro C, Costa A, Castro J, Rocha F, Alves M, Goulart M, Cardoso C, Ferreira W, Lazaro P, Soares A, Miranda S, Pimenta F. Detecção de *Candida albicans* fosfolipidolíticas: isoladas da saliva de crianças com síndrome de down. Acta medica portuguesa 2002, vol. 15, nº3, pp. 171-174
- 54 Giacaman RA, Muñoz-Sandoval C, Bravo González E, Farfán-Cerda P. Cuantificación de bacterias relacionadas con la caries dental en saliva de adultos y adultos mayores. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral Vol. 6(2); 71-74, 2013
- 55 Davidovich E, Aframian D, Shapira J, Peretz B. A comparison of the sialochemistry, oral pH, and oral health status of down syndrome children to healthy children Int J Paediatr Dent. 2010 Jul;20(4):235-41
- 56 Ministerio de Salud. Chile: „Diagnostico de situación de salud“. Disponible online en: http://www.redsalud.gov.cl/archivos/salud_bucal/perfilepidemiologico.pdf.
- 57 Linossier A, Valenzuela C, Toledo H. Differences of the oral colonization by Streptococcus of the mutans group in children and adolescents with Down syndrome, mental retardation and normal controls. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2008 Sep 1;13(9):E536-9

- 58 Cogulu D, Sabah E, Uzel A, Ozkinay F. Genotyping of *Streptococcus mutans* by using arbitrarily primed polymerase chain reaction in children with Down Syndrome. *Arch Oral Biol.* 2006 Mar;51(3):177-82
- 59 Stabholz A, Mann J, Sela M, Schurr D, Steinberg D, Shapira J. Caries experience, periodontal treatment needs, salivary pH, and *Streptococcus mutans* counts in a preadolescent Down syndrome population. *Spec Care Dentist.* 1991 Sep-Oct;11(5):203-8
- 60 Hedge P, Ashok Kumar B, Ankola V. Dental caries experience and salivary levels of *Streptococcus mutans* and lactobacilli in 13-15 years old children of Belgaum city, Karnataka. *J Indian Soc Pedo Prev Dent.* March 2005
- 61 Pipes P, Holm V. Feeding children with Down's Syndrome. *J Am Diet Assoc.* 1980 Sep; 77(3):277-82.
- 62 Negroni M. *Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica.* 2^o ed. Editorial Médica Panamericana. Cap 25 p.399 – 404
- 63 Yarat A, Akyüz S, Koç L, Erdem H, Emekli N. Salivary sialic acid, protein, salivary flow rate, pH, buffering capacity and caries indices in subjects with Down's syndrome. *Journal of Dentistry* 27 (1999) 115–118

ANEXOS

ANEXO N°1



**CONSENTIMIENTO INFORMADO PROTOCOLO DE ESTUDIO DE
EVALUACION CLINICA Y MICROBIOLOGICA DEL STATUS BUCAL EN
NIÑOS CON SINDROME DE DOWN**

Investigadores: Dra. Sandra Rojas, Dra. Vesna Simunovic,

Dra. Patricia Palma, Dra. Marta Gajardo, Dra. Fanny Cortes

Institución: Departamento de Odontología Clínica Las Condes

Teléfono: 02-6108068

Este documento sirve para que Ud. o quien lo represente dé su consentimiento para que su hijo participe en un estudio de saliva en niños de 4 a 18 años. Eso significa que nos autoriza a realizar este estudio con la participación de su hijo.

Lo(s) queremos invitar a participar en un estudio de Evaluación clínica y microbiológica de saliva en 25 pacientes de 4 a 18 años con Síndrome de Down y 25 pacientes de la misma edad sin esta patología, que consistirá en :

1.-Evaluación clínica en la que se realizará un examen visual para observar presencia o ausencia de placa bacteriana, caries clínica y estado gingival (encías) de su hijo. Todos los registros, fotos clínicas intraorales y antecedentes de su hijo serán guardados en una ficha clínica y no serán ocupadas en objetivos ajenos a este estudio y no autorizados por Ud.

2.-Evaluación microbiológica que consiste en tomar una muestra de saliva solicitando al niño que deposite saliva en un tubo de ensayo estéril. Junto con esto se tomará una muestra de placa bacteriana o restos de alimentos adheridos a los dientes, para esto se requiere pasar un instrumento de madera como un hisopo muy pequeño sobre uno de los dientes anteriores para obtener esta muestra. Si su hijo no tuviera placa bacteriana o restos alimentarios a simple vista, se tomará una muestra de saliva de la superficie de la lengua con un hisopo pequeño de algodón. Estos procedimientos no le causarán ningún problema de sensibilidad ni mal sabor.

3.- Las muestras de saliva y de placa bacteriana serán enviadas al laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la U. de Chile donde serán rotuladas, con un nº para mantener la privacidad de los registros, procesadas y analizadas.

Las muestras serán descartadas después de su análisis según protocolo del comité de bioseguridad de la Facultad de Odontología de la U de Chile.

4.- La custodia de los registros será responsabilidad de la Investigadora responsable y mantenidos en Clínica Las Condes

5.- Los resultados del estudio se utilizarán para tener base científica de programa preventivo odontológico para los pacientes niños y adolescentes. Difusión de los resultados en una publicación en revista científica y presentación a congreso de odontopediatría.

Objetivo del estudio: El objetivo de este estudio es realizar un estudio clínico y microbiológico de la características de la saliva y placa bacteriana presente en

pacientes con Síndrome de Down (SD) atendidos en CLC, y comparar con muestras de saliva y placa bacteriana de niños sin SD.

¿Qué queremos probar? : Que los niños con SD pueden presentar bacterias en saliva y placa bacteriana que son capaces de producir algunas enfermedades orales como las caries y gingivitis que mas tarde si no es tratada puede progresar en la adolescencia o adultez a una enfermedad de mayor severidad y que provoca daño irreversible en las estructuras que rodean los dientes llamada periodontitis.

Tiempo de duración del estudio: El estudio durará 2 años, pero su hijo será citado en dos oportunidades, una sesión para la evaluación clínica y otra diferente para la evaluación microbiológica, de esta forma la atención dental será breve y no cansadora para el niño.

Beneficios: Su hijo recibirá una evaluación odontológica para conocer su estado de salud bucal y factores de riesgo de caries y enfermedad de encías. Los resultados de este estudio aportarán conocimientos de las bacterias presentes en saliva y placa bacteriana de su hijo, que pueden ser causa de enfermedades propias de la cavidad bucal como caries y enfermedad periodontal, además la información obtenida será la base para planificar estrategias preventivas para esta enfermedades en los niños que participan en el programa de Genética niños con Síndrome de Down de Clínica Las Condes.

Procedimiento: A su hijo/a se le realizará un examen clínico visual de la cavidad oral con un espejo bucal pequeño y se registrará el índice de higiene oral en los dientes en base a presencia o no de placa bacteriana visual.

El examen microbiológico consiste en tomar una pequeña muestra de saliva de su hijo solicitándole que deposite saliva en un tubo de ensayo estéril y las muestras de placa bacteriana se obtendrán desde los dientes anteriores y molares.

Riesgos: El examen clínico no tiene ningún tipo de riesgo

Situaciones especiales a tomar en cuenta: Si a su hijo algún procedimiento le produce temor o no puede realizar alguno de los procedimientos, no se obligará a participar.

Costos: Los estudios realizados en este trabajo son sin costo para usted. Este estudio no incluye otros gastos de salud oral que su hijo/a pueda requerir eventualmente en el futuro.

Compensación: Ni usted ni su hijo/a recibirán compensación económica alguna por su participación en el estudio.

Alternativas: Si usted (es) decide no participar en el estudio, su hijo(a) recibirá sin ninguna diferencia todas sus evaluaciones y estudios en forma habitual en CLC.

Confidencialidad: Toda la información derivada de su participación en este estudio será conservada en estricta confidencialidad, no será ocupada en objetivos ajenos a este estudio y no autorizados por Ud. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima.

Si los padres o tutores requieren conocer los resultados de los exámenes de sus hijos, los pueden solicitar a los investigadores.

Voluntariedad: La decisión de participar en este estudio es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento comunicándolo a los investigadores. Si usted retira su consentimiento las muestras serán eliminadas y la información obtenida no será utilizada.

Derechos: Si requiere información adicional acerca de sus derechos para este estudio, Usted(es) puede(n) contactarse con el Presidente del Comité de ética de CLC Dr. Armando Ortiz Pommier,

Si tiene preguntas o dudas sobre el estudio, puede comunicarse con el investigador responsable Dra. Sandra Rojas (02-6108068), co-investigadores Dra. Vesna Simunovic (02-6108068) o Dra. Fanny Cortes (02-6108080).

Conclusión: Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para participar en este estudio.

Se me ha explicado el propósito de esta investigación odontológica, los procedimientos, los riesgos, los beneficios y derechos que me asisten. Firmo este

documento voluntariamente, sin ser forzado/a a hacerlo, en dos ejemplares y en este acto recibo una copia del mismo.

Yo....., padre o madre de..... acepto que mi hijo/a participe en este estudio y me comprometo a cumplir con las indicaciones, que me entreguen.

Nombre Apoderado o tutor legal

Firma

Nombre del Informante – Investigador

Firma

Fecha: ___ / ___ / ___

Tel: (056-2)-6108068, Fax: (056-2)6108068

ANEXO N°2**ASENTIMIENTO INFORMADO MENOR DE EDAD VOLUNTARIO**

Te queremos contar que vamos a hacer una investigación para conocer los microorganismos o bacterias que están en la saliva y dientes de los niños. Todas las personas tienen bacterias en su boca y sabemos que comienzan a llegar a la saliva y dientes de los niños de tu edad. Algunas bacterias pueden producir enfermedad en las encías y también en los dientes: las caries.



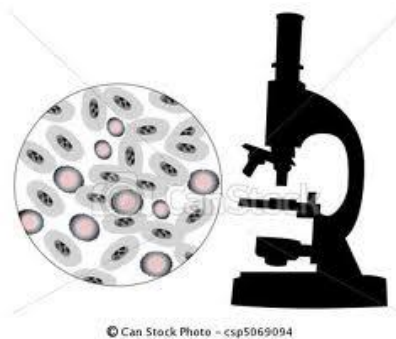
Queremos invitarte a participar en un estudio junto a otros niños de tu edad, para saber si estas bacterias están en tu saliva y así poder ayudarte a evitar que enfermes. Para esto necesitamos que tu nos des un poco de tu saliva y la coloques en un tubo de vidrio que llevaremos al laboratorio para estudiarla.



Además pasaremos un cotonito de algodón por tus dientes para tomar una muestra de la placa bacteriana de tus dientes anteriores (los dientes de arriba) para conocer las bacterias que están en tus encías.



Después llevaremos tu saliva y muestra de placa bacteriana al laboratorio para estudiar con microscopio y te avisaremos los resultados de los exámenes.



© Can Stock Photo - csp5069094

Es importante que sepas que no tienes por qué participar en esta investigación si no lo deseas. Es tu decisión si decides participar, puedes pensarlo, conversarlo con tus padres o amigos y decidirlo después.

Tus padres/apoderado ya están informados y saben que te estamos preguntando a ti también para tu aceptación. Si vas a participar en esta investigación, tus padres también tienen que aceptarlo, pero si no deseas participar, no tienes por qué hacerlo aun cuando tus padres hayan aceptado.

Si hay alguna palabra que no entiendas, o algo que te preocupe, puedes preguntármelo y me tomaré el tiempo para explicarte.

Los dibujos son para que entiendas el procedimiento que haremos para obtener la saliva y la muestra de tus dientes que vamos a estudiar.

Firma del participante del estudio _____ Fecha _____

Firma del investigador _____ Fecha _____

He preguntado al niño y entiende que su participación es voluntaria

ANEXO N°3

CRITERIOS PARA EVALUAR HIGIENE ORAL

Esta evaluación se hará mediante el Índice de Higiene Oral Simplificado o IHOS que determina el grado de higiene bucal según la acumulación de depósitos blandos y duros.

Se examinará los dientes de Ramfjord y se considera necesario que los dientes estén completamente erupcionados para evaluar correctamente la presencia de depósito blando y/o cálculo. Si por el contrario, cuando estos dientes no se encuentran completamente erupcionados, se evaluarán, los 2° molares temporales. Para el caso de los incisivos permanentes, cuando no se encuentren completamente erupcionados o estén ausentes no se incluirán en el examen. Si solo esta el incisivo temporal, este se utilizará para la evaluación. . El IHOS tiene un valor mínimo de 0 y un valor máximo de 6.

a. Registro de Depósitos blandos

Se examinará las superficies siguiendo la secuencia 1.6 - 1.1 - 2.6 - 3.6 - 3.1 - 4.6 Las superficies dentales se examinaran desde el borde incisal a cervical con el explorador procurando revisar toda la superficie. La puntuación debe reflejar la estimación de toda la superficie.

En el cuadro 1 se describen los criterios clínicos establecidos para obtener el índice de depósitos blandos.

Cuadro 1

Descripción de hallazgos clínicos	Grado
Ausencia de Placa Bacteriana (PB) ni mancha extrínseca en la superficie examinada	0
Presencia de PB cubriendo hasta 1/3, o bien ausencia de PB pero si existen manchas extrínsecas	1
Presenta PB Cubriendo más de 1/3 con o sin manchas extrínsecas	2
Presencia de PB Cubriendo más de 2/3 de la superficie examinada, podrá o no haber manchas extrínsecas.	3

b. Registro de Cálculo Dentario

Se utilizará un explorador y espejo N° 5 para estimar el área cubierta por depósitos de cálculo dentario. En el cuadro 2 se describen los criterios establecidos para obtener el índice de cálculo dentario.

Cuadro 2

Descripción de hallazgos clínicos	Grado
Ausencia de cálculo subgingival	0
Presencia de cálculos subgingival cubriendo más de 1/3 de la superficie examinada	1
Presenta cálculo subgingival cubriendo más de 1/3 pero menos de 2/3	2
Presenta cálculo en subgingival más de 2/3 de la superficie examinada	3

c. Obtención del índice

Una vez obtenido el registro de depósito blando y duro se procederá a calcular el IHOS. El promedio de detritos bucales se obtendrá sumando los valores encontrados y dividiendo por las superficies examinadas. El mismo método se utilizará para obtener el promedio para cálculo dentario. El IHOS se calculará sumando el promedio de depósitos blandos y el promedio de depósitos duros. Su valoración numérica se agrupará en relación al grado de higiene oral que presenta cada niño de la siguiente manera:

Grado de Higiene Oral

Adecuado	Aceptable	Deficiente
0.0-1.2	1.3-3.0	3.1-6.0

ANEXO N°4**FICHA DE REGISTRO DE EVALUACIÓN CLÍNICA**

Paciente N° _____

Edad _____

Dentición Temporal _____

mixta 1ºfase _____

2ºfase _____

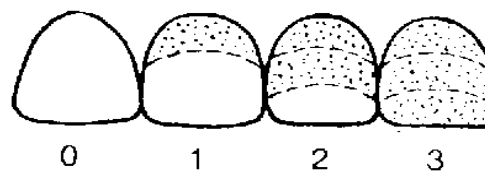
Permanente _____

Sexo _____

IHOS (1) + (2) = _____

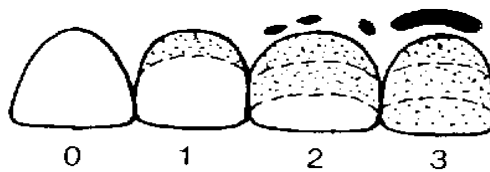
(1) Índice Depósitos blandos _____

Diente	Valor 1	Valor 2	Promedio
1.6			
2.1			
2.6			
3.6			
3.1			
4.6			



(2) Índice Depósitos duros _____

Diente	Valor 1	Valor 2	Promedio
1.6			
2.1			
2.6			
3.6			
3.1			
4.6			



ANEXO N°5

Santiago, 05 de junio del 2012

Doctora.

Sandra Rojas.

Presente.

Estimada Dra. Rojas,

En nombre de la Dirección Académica de Clínica Las Condes, tengo el agrado de informar a usted que su proyecto postulado al Concurso de Investigación de la Dirección Académica de Clínica Las Condes 2012, ha sido seleccionado dentro de los proyectos ganadores del presente concurso:

Título Proyecto: Evaluación clínica y microbiológica del status bucal de niños con Síndrome de Down atendidos en Clínica Las Condes.

Monto: U\$ 2.000

Por el éxito de su postulación y el reconocimiento que los evaluadores han brindado a los méritos científicos de su propuesta, extendemos a usted nuestras felicitaciones.

El proceso de evaluación fue llevado a cabo con rigurosidad, evaluándose 10 áreas y 25 ítems en cada trabajo. De acuerdo a la puntuación otorgada por los evaluadores, su trabajo resultó quinto en su categoría.

Dentro de los próximos 30 días Ud. deberá presentar su proyecto al Comité de ética de CLC y fijar reunión con el equipo de la Sub-Dirección de investigación para comunicarle los comentarios de los revisores y afinar algunos detalles metodológicos de su proyecto (le agradeceremos enviar su disponibilidad de horario para las próximas 2 semanas al email ylucero@clc.cl). Ambos son condiciones para poder iniciar su proyecto.

Reiterando nuestras sinceras felicitaciones, le saludan atentamente,

Equipo Sub-Dirección de investigación: Dr. Juan Pablo Torres T.

Dra. Yalda Lucero A.

EU. Sra. Magdalena Castro

EU Sra. Daniela Simian

ANEXO N°6



Acta de Aprobación

En Santiago de Chile, con fecha 06 de septiembre de 2012, el Comité de Ética de Clínica Las Condes, declara conocer el proyecto de investigación denominado "Protocolo de estudio de evaluación clínica y microbiológica del status bucal en niños con Síndrome de Down", cuya investigadora responsable es la Dra. Sandra Rojas F. de esta clínica, así como, el protocolo de consentimiento y de asentimiento informado que forman parte del mencionado proyecto.

Esta documentación cumple con las normas éticas vigentes en esta institución; resguarda su libertad, integridad y confidencialidad en el uso de información; no vulnera la dignidad de los sujetos; no constituye una amenaza bajo ninguna circunstancia ni causa daño emocional o moral a las personas que participen de la investigación. Proporciona información clara y transparente respecto de la investigación, asegurando el derecho a privacidad de los investigados. Asimismo, no se establece pago ni incentivo económico a la participación de las personas, las cuales lo harán a entera voluntad y podrán desistir de participar en cualquier momento mientras la investigación se realice.

El Comité de Ética de Clínica Las Condes, es la entidad institucional responsable de velar por los derechos de los sujetos involucrados en este proyecto -en caso que éste se realice.

Por lo tanto, a través de este medio se pronuncia favorablemente respecto de este proyecto y suscribe esta declaración.


Armando Ortiz Pomar
Presidente Comité de Ética
Clínica Las Condes



C.C. ADP/archCEA
AQ/sa