

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL TEST DE ADHERENCIA Y EL TEST DE RECUENTO EN PLACA PETRY DE STREPTOCOCCUS MUTANS EN SALIVA

Dra. Laura Pivel*

Dra Marina Angulo**

Dr. Enrique Zinemanas***

Palabras claves: Streptococcus mutans, caries, saliva

INTRODUCCION

Numerosos tests han sido diseñados con la finalidad de determinar grupos de riesgo en cariológia. Los de mayor aplicabilidad para poblaciones numerosas estudian la saliva (14). Los tests bacteriológicos que se emplean con esta finalidad determinan niveles de Streptococcus del grupo mutans, Lactobacilus y levaduras (1,2,3,4,13,16). Los tests que estudian S. del g. mutans han sido objeto de gran número de trabajos y pueden clasificarse en términos generales en dos grandes grupos: aquellos que utilizan una técnica que permite un recuento en medio sólido (9,15) y aquéllos que detectan el nivel de S.g. mutans a través de elementos como la capacidad de adherencia en caldos sacarosados (7,10,11). Los test del primer grupo son más precisos pero de realización relativamente compleja y costosa. Se han ido simplificando en múltiples aspectos pero aún presentan limitantes por su utilización en medios con escasos recursos materiales.

Los tests de adherencia que permiten inferir indirectamente el nivel de St. mutans en la muestra inicial, son más accesibles a nuestras posibilidades. De este grupo de test, el de Matsukubo es el que mejor se adapta a nuestra situación de trabajo. Ha sido estudiado este test en forma comparativa con el test de la espátula de Bratthall (8,12). No es accesible para nuestro medio el último de los mencionados, por ésta razón consideramos de interés realizar un estudio comparativo entre 2 técnicas el Test de adherencia de Matsukubo y el Test de recuento en placa Petry como lo han realizado en estudios previos Jordan, Gold, (5,6). En el presente trabajo se expresan y analizan los resultados obtenidos con ambas técnicas en el estudio de tres poblaciones diferentes.

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 3 poblaciones: 22 preescolares (kindergarden "Los Indiecitos"), 39 escolares (niños atendidos en Cátedra de Odontopediatría, F. de Odontología) y 45 estudiantes universitarios (F. de Odontología). La muestra obtenida fue saliva no estimulada y se procesó en un plazo no mayor a 3 horas de obtenida.

La técnica de Matsukubo se realizó de acuerdo al protocolo descrito en el trabajo original de Matsukubo (11): 100 microlitros de

* Encargada de Cátedra de Microbiología

** Asistente Cátedra de Microbiología

*** Asistente Interino Cátedra de Bioquímica

28

saliva se inocularon en 2 ml. de medio de cultivo líquido (medio de Gold sin agar). Los inhibidores bacitracina y telurito de potasio se adicionaron al medio el día del cultivo. La bacitracina se hidrató el día de utilización. Se incubó en tubos de 12 x 75 m.m. (tubos de hemólisis), 24 hs. a 37°C, con una inclinación de 15°. La lectura se realizó luego de vaciar y enjuagar cada tubo, para eliminar lectura de falsas adherencias. Se trabajó con la escala indicada: 0 no adherencia + 1 a 10 colonias ++ 10 a 20 colonias +++ más de 20 colonias.

El test de recuento en Placa Petry se realizó en medio de cultivo sólido de Gold en placa Petry (5). El medio base se preparó en la misma instancia que el de Matsukubo (excepto el agregado de agar, lo que hace que el medio de Matsukubo sea un medio líquido). Se utilizaron las mismas diluciones de los inhibidores (bacitracina y telurito) para la preparación de ambos tipos de medios. Para la siembra se trabajó con la misma muestra de saliva y se realizó en forma inmediata para cada test. Se diluyó la saliva en buffer de fosfatos pH 7,2 en diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-4} . Se trabajó con las diluciones 10^{-2} y 10^{-4} , de los cuales se sembró 0,1 ml. en una hemiplaca de Gold. Incubación a 37° 48 hs. en atmósfera enriquecida en CO_2 . Lectura. Se utilizó lupa estereoscópica 40X con iluminación doble. Las colonias dudosas se estudiaron en su capacidad de fermentación del manitol. Se leyeron las dos diluciones realizadas y se registró el recuento de la hemiplaca con menos de 150 colonias, en los casos de recuentos elevados.

RESULTADOS

Se registraron en forma independiente para ambos tests. La correlación entre el logaritmo de los recuentos y el resultado del

test de Matsukubo fue evaluada por el coeficiente de correlación de Spearman. Para el cálculo de la sensibilidad y especificidad se consideraron valores positivos los mayores de 10^5 para el recuento y + + + para el test de Matsukubo.

Los resultados se observan en las Tablas I, II y III, en forma separada para cada una de las poblaciones.

Tabla I
22 pre-escolares.

Recuento	Matsukubo		
	+	++	+++
$> 10^5$	0	0	2
$10^4 - 10^5$	1	0	4
$< 10^4$	10	3	2

$$r_s = 0,86$$

$$p < 0,0005$$

Sensibilidad: 1
Especificidad: 0,7

Tabla II
39 escolares.

Recuento	Matsukubo		
	+	++	+++
$> 10^5$	1	2	9
$10^4 - 10^5$	0	3	13
$< 10^4$	5	4	1

$$r_s = 0,60$$

$$p < 0,0005$$

Sensibilidad: 0,75
Especificidad: 0,46

14.- VANDERASA P., D. D. S., J. D., M. P. H. Bacteriologic and non bacteriologic criteria for identifying individuals at high risk of developing dental caries. A review, J. Public - Health Dentistry 1986: 46 (2): 106-114

15.- WESTERGREN G., KRASSE B. Evalu-

ation of a micromethod for determination of S. Mutans and Lactobacillus infection. J. Clin. Microbiol. 1978; 7 (1): 82-83

16.- ZICKERT I.; EMILSON C. G., KRASSE B. Prediction of caries incidence based on S. mutans and Lactobacillus counts J. Dent. Res. 1985; 67 (Sep. issue): 346. Abstract 1545.

Tabla III
46 estudiantes universitarios

Recuento	Matsukubo		
	+	++	+++
$> 10^5$	0	0	2
$10^4 - 10^5$	8	2	2
$< 10^4$	25	5	2

$$r_s = 0,35$$

$$p < 0,01$$

Sensibilidad: 1
Especificidad: 0,9

DISCUSION

Del análisis de las tablas se deduce que el test de adherencia tiene buena sensibilidad y aceptable especificidad. Esto permite utilizarlo como test primario para el estudio de poblaciones numerosas. Esto es particularmente importante pues el test es de realización simple y rápida, puede ser llevado a cabo por personal no especializado, es de costo relativamente bajo, y muy inferior al del recuento clásico y al de otros tests simplificados. No es posible en nuestro medio utilizar kits comerciales pre-preparados por su elevado costo, motivo que nos llevó a testar medios más económicos.

CONCLUSIONES

El test de Matsukubo puede ser utilizado como test primario para la valoración de la colonización de S. mutans.

Es de interés proseguir el estudio de los test de adherencia para mejorar la especificidad y además obtener valores

comparativos con los tests de recuento en placa.

RESUMEN

El recuento de Streptococcus mutans sumado a los tests de descripción de Lactobacilos son un instrumento útil en cariólogía para la detección de grupos de riesgo. En estudios que involucran a un gran número de pacientes, los tests de recuento de Streptococcus mutans en saliva son muy costosos y también complicados de realizar. Por ello han sido perfeccionadas las técnicas simplificadas que se basan en el diagnóstico de S.m. por su adherencia, por ejemplo a las paredes de vidrio de un tubo. El más adecuado de ellos (teniendo en cuenta nuestras condiciones de trabajo), es el test de Matsukubo.

Consideramos de interés su correlación con el test de recuento en medio de Gold. El estudio ha sido realizado con tres poblaciones diferentes usando conjuntamente ambas técnicas. De acuerdo a los índices de correlación obtenidos, concluimos que entre las técnicas de Matsukubo y el test de recuento existe una correlación significativa. Debido a su bajo costo, la simplicidad de su realización, y a su fácil lectura, puede ser efectivo como procedimiento primario cuando tenemos poblaciones numerosas para estudiar.

SUMMARY

The Streptococcus mutans counts - added to lactobacili depicting test - are an useful instrument in cariology when determining the risk groups. In studies concerning a large number of patients the S. Mutans count in saliva test are the most accesible. Nevertheless, they are very expensive and also complicate to

carry out. Simplified techniques which depict *S. Mutans* on the basis of adherence tests have been perfected. The most suitable from them, taking into account our working conditions, is the Matsukubo test. We deemed it interesting to correlate this test and the Gold medium count. The study has been carried out with three different populations using both techniques at the same time. As per the correlation indices obtained we conclude that the Matsukubo technique and the count have a significant correlation between them. Due to its low cost, the simplicity of its realization, as well as its easy reading it can be effectively used as a primary procedure when studying populations large in number. Through this method selection will be made of the patients to be studied applying more precise microbiological techniques.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALALUUSUA, S.; SAVOLAINEN J.; TUOMPO H.; GRONROOS L. Slide scoring method for estimation of *S. mutans* levels in saliva. *Scand J. Dent. Res.* 1984; 92: 127-33
- 2.- CROSSNER C. G. Salivary *Lactobacillus* counts in the prediction of caries activity. *Community Dental Oral Epidemiol.* 1981; 9: 182-90
- 3.- CROSSNER C. G.; UNELL L. "Salivary *Lactobacillus* counts as a diagnostic and didactic tool in caries prevention". *Community Dent. Oral Epidemiol.* 1986, 14: 156-60
- 4.- EMILSON C. G.; KRASSE B. Comparison between a dip slide test and plate count for determination of *S. mutans* infection. *Scand J. Dent. Res.* 1986, 94: 500-6
- 5.- GOLD O., JORDAN H. V., VAN HOUTE J. A selective medium for *S. mutans*. *Arch. Oral Biol.* 1973; 18: 1357-1364.
- 6.- JORDAN H. V. Cultural methods for the identification and quantification of *S. mutans* and *Lactobacilli* in oral samples. *Oral Microbiol. Immunol.* 1986; 1: 23-27
- 7.- KALFASS S., EDWARDS S., BIRHED D. Determination of salivary *S. mutans* level in a stable sucrose sulphasomidine containing broth. *Caries Res.* 1985; 19: 320-326
- 8.- KÖHLER B.; BRATHALL D. Practical method to facilitate estimation of *S. mutans* levels in saliva. *J. Clin. Microb.* 1979; 4 (5): 584-86
- 9.- LARMAS M. Simple tests for caries susceptibility. *Int. Dent. Journal* 1985; 35: 109-17
- 10.- MATSUKUBO T., OHTA K., MABI Y., TABENCHI M., TAKAZOE L. A semiquantitative determination of *S. mutans* using its adherent ability in a selective medium. *Caries Res.* 1981; 15: 40-45
- 11.- MATSUKUBO T., SAITO T., OHTA K., MABI Y., SUZUBA J., TAKAESU T., TAKASOE I., AAMI K. A practical method for differentiating the salivary levels of *S. mutans* using a stabilized selective broth. *Bull Tokyo Dent. Coll* 1983; 24 (4): 195-202
- 12.- NEWBRUN E., MATSUKUBO T., HOOVER C. L., GRAVES R. C., BROWN A. T., DISNEY I. A., BOHANNAN H. M. Comparison of 2 screening tests for *S. mutans* and evaluation of their suitability for mass screening and private practice. *Community Dent. Oral Epidemiol* 1984; 12: 325-331
- 13.- SABELLI C. y col. Nuevo test de adherencia. Comunicación personal - UBA 1988; Bs. As. Argentina.