

## Detección de mutacinas en biotipos de cepas *S. mutans* aisladas de niños preescolares con y sin caries dental

Mutacins detection in *S. mutans* biotypes isolated from preschool children with and without dental caries

Fredy Gamboa\*\*  
Margarita Chaves\*\*  
Mabel Estupiñán\*\*  
Adriana Galindo\*\*\*

Univ Odontol 2006 Jun-Dic; 25(57):7-13

### RESUMEN

*Streptococcus mutans* es el principal microorganismo implicado en caries dental. Diferentes investigaciones sugieren que las mutacinas producidas por esta bacteria pueden ser muy importantes en su habilidad para desplazar cepas nativas y virulentas de esta misma especie en cavidad oral. El objetivo de este trabajo fue determinar la producción de mutacinas en las cepas *S. mutans* biotipificadas que fueron aisladas de pacientes con y sin caries. Con este fin se tomó saliva no estimulada de 53 niños con edades entre 3 y 5 años de la escuela Diego Torres (Turmequé, Boyacá). Las muestras de saliva se diluyeron en tampón fosfato 0.05 M, se cultivaron en Agar Mitis Salivarius Bacitracina, para el aislamiento selectivo y recuento de *S. mutans*, y se incubaron en anaerobiosis durante 2 días a 37°C. Después de la identificación por pruebas bioquímicas, las cepas aisladas se

biotipificaron con el sistema enzimático Api-ZYM (bioMérieux; Marcy-IE'toile, France). Para detectar la producción de mutacinas se tomaron las cepas de *S. mutans* a evaluar (cepa productora), se sembraron en Agar BHI y se incubaron durante 48 horas en CO<sub>2</sub> a 37°C. Al cabo de las 48 horas de incubación se adicionaron encima del agar BHI, 5 ml de agar BHI con 10<sup>6</sup> UFC/ml de la cepa de *S. mutans* que va a actuar como indicadora. La experiencia de caries dental en esta población fue de 66% (35/53), y *S. mutans* fue aislado en 33 de los 53 niños incluidos en el estudio (62%). Las 33 cepas de *S. mutans* aisladas se agruparon en 10 biotipos. Los biotipos más frecuentes fueron el 10, el 15 y el 11, respectivamente con 9, 8 y 4 cepas. Ocho (24%) de las 33 cepas evaluadas produjeron mutacinas, 6 de estas cepas provinieron de pacientes con caries y las otras dos de pacientes sin caries. Las 8 cepas productoras de bacteriocinas pertenecen

a 5 biotipos diferentes: 3 cepas con biotipo 10, 2 cepas con biotipo 14, y las tres últimas fueron, respectivamente, biotipos 11, 15 y 17. Los resultados obtenidos en este trabajo son consistentes con la información presentada en otros trabajos realizados con *S. mutans*. En conclusión, en las 33 cepas de *S. mutans* evaluadas se identificaron 8 cepas (24%) productoras de mutacinas, de 5 biotipos diferentes, que después de cumplir con otros requerimientos tienen gran opción de ser utilizadas en el control de infecciones orales en las que esté implicado *S. mutans*.

### PALABRAS CLAVE

Caries dental, *S. mutans*, mutacinas, acción inhibitoria

### ABSTRACT

*Streptococcus mutans* is the main microorganism implied in dental caries. Different researchs suggest that mutacins produced by this bacterium may be very important in the ability to exclude or preempt *S. mutans* establishment in the oral cavity. The aim of this study was to determine the mutacin production in the *S. mutans* strains isolated and biotyped from patients with and without dental caries. Unstimulated saliva was collected from 53 3 to 5-year-old children from the Diego Torres school in Turmequé (Boyacá, Colombia). Saliva samples were vortexed and serially diluted in 0.05 M phosphate buffer. Aliquots of the appropriate dilutions were cultured on Mitis Salivarius Bacitracin agar medium for the selective isolation of *S. mutans*, and incubated anaerobically for two days at 37°C. After, to the identification by biochemical tests, the strains isolated were biotyped with Api-ZYM enzymatic system (bioMérieux; Marcy-IE'toile, France). In order to determine the mutacins production, the strains were inoculated onto brain heart infusion agar (BHI). After a 48-hour CO<sub>2</sub> incubation

\* Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias. Centro de Investigaciones Odontológicas (Facultad de Odontología).

\*\* Centro de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología.

\*\*\* Bacteriólogas. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

at 37°C, the plates were overlaid with 5 ml of 0,75% BHI agar containing 0.5 ml of an overnight BHI culture of the indicator strain. After an additional 48 hour CO<sub>2</sub> incubation at 37°C the width of the inhibition zone was measured. The dental caries experience in these children was 66 (35/53) and *S. mutans* was found in the saliva of 33 children (62%). In the 33 strains of *S. mutans* 10 biotypes were found. The most frequent biotypes were the 10, 15 and the 11, respectively, with 9, 8 and 4 strains. Eight (24%) of the 33 evaluated strains produced mutacins, 6 of these strains came from patients with dental caries and the other two from patients without dental caries. The 8 strains which produced mutacins presented 5 different biotypes: 3 strains with biotype 10, 2 strains with biotype 14, and the last three ones were, respectively, biotypes 11, 15, and 17. The obtained results in this study are in agreement with the information reported in other works done with *S. mutans*. Conclusions: In the 33 strains of *S. mutans* evaluated, 8 strains (24%) which produced mutacins with 5 different biotypes were identified, which after accomplishing other requirements have a great option to be used in oral infections control in which *S. mutans* is involved.

## KEY WORDS

Dental caries, *S. mutans*, mutacins, inhibitory action

## INTRODUCCIÓN

En muchas partes del mundo las acciones realizadas por instituciones de salud, en la prevención y control de la caries dental, no han sido suficientes para lograr una reducción significativa de esta enfermedad<sup>1</sup>.

*Streptococcus mutans*, microorganismo normal de cavidad oral, acidogénico y acidúrico, es considerado el principal agente causal de caries dental<sup>2</sup>. Diferentes estudios han mos-

trado una fuerte correlación entre el número de *S. mutans* en cavidad oral y la prevalencia e incidencia de caries<sup>2-4</sup>. Otros investigadores plantean la presencia de especies diferentes a *S. mutans* en la iniciación de la caries dental<sup>5</sup>.

El hecho de reconocer a *S. mutans* como el microorganismo más importante en la iniciación de la caries dental, ha llevado al diseño de medidas de prevención y control dirigidas hacia la eliminación o disminución de éste en la cavidad oral<sup>6</sup>.

El establecimiento y posterior multiplicación de *S. mutans* en la cavidad oral está influenciado por varios factores<sup>7</sup>. La capacidad metabólica de este microorganismo para sintetizar glucanos a partir de la sacarosa y producir bacteriocinas, tiene gran importancia en el proceso de iniciación y desarrollo de la caries dental<sup>7</sup>.

Hamada y Ooshima<sup>8</sup> demostraron que muchas cepas de *S. mutans* son productoras de bacteriocinas. Las mutacinas o bacteriocinas producidas por *S. mutans* tienen un amplio rango de actividad contra microorganismos gram-positivos y especies estrechamente relacionadas<sup>8-10</sup>.

Las mutacinas son péptidos o antibióticos proteínicos con fuerte propiedad bactericida<sup>11</sup>. La producción de mutacinas podría conceder ventajas a ciertas especies bacterianas en la colonización de la cavidad oral<sup>12-15</sup>. Fabio *et al.*<sup>15</sup> demostraron que la producción de mutacinas puede incrementar la proporción de *S. mutans* en estreptococos orales.

Los objetivos de este estudio fueron: 1. Determinar el perfil de biotipos en las cepas *S. mutans* aisladas; 2. Establecer la diferencia existente en biotipos de cepas de *S. mutans* provenientes de niños con caries en relación

a las cepas de *S. mutans* provenientes de niños sin caries; y 3. Determinar la producción de mutacinas en las cepas *S. mutans* biotipificadas que fueron aisladas de pacientes con y sin caries.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección de la muestra y procedimientos microbiológicos

En el presente estudio se incluyeron 53 niños en edades de 3 a 5 años pertenecientes a la sección primaria del colegio Diego Torres en Turmequé (Boyacá). Antes de la inclusión de los niños en el estudio se contó con la firma del consentimiento informado por parte de los padres o tutores de los mismos. Ninguno de los niños incluidos había recibido tratamiento antimicrobiano en los últimos 7 días previos a la toma de muestra. El examen clínico en la cavidad oral permitió establecer la experiencia de caries. Las muestras de saliva no estimulada<sup>16</sup> se tomaron mediante suave succión con una pipeta plástica. En seguida, las muestras fueron agitadas en vortex durante 30 segundos y serialmente diluidas con tampón fosfato 0.05M. Con el fin de realizar el aislamiento selectivo y recuento de *S. mutans*, 100 ul de las diluciones seriadas se inocularon en Agar Mitis Salivarius Bacitracina (MSB). El agar MSB (Difco Laboratories; Detroit, MI) contiene caseína pancreática digerida, peptona proteosa No. 3, peptona proteosa, dextrosa, sacarosa 20%, fosfato dipotásico, azul tripan, cristal azul, agar, telurito de Chapman y bacitracina 0.2 U/ml. Las cajas de petri con agar MSB fueron incubadas anaeróbicamente (H<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>:N<sub>2</sub> 10:10:80) durante 2 días a 37°C. Después del crecimiento se hizo el recuento de colonias con morfología característica de *S. mutans*<sup>17</sup> y se expresaron como unidades formadoras de colonia (UFC) per ml de saliva no estimulada. Las colonias con características de *S. mutans* fueron examinadas por la tinción de

gram y sometidas a las siguientes pruebas bioquímicas: fermentación de rafinosa, manitol, melobiosa, trehalosa e inulina; hidrólisis de la esculina en presencia y ausencia de bilis; ureasa; hidrólisis de la arginina; y resistencia a la bacitracina. El perfil bioquímico de *S. mutans* es: fermentación positiva de rafinosa, manitol, melobiosa, trehalosa e inulina; hidrólisis negativa de la esculina en la presencia de bilis e hidrólisis positiva de la esculina en ausencia de bilis; ureasa negativa; hidrólisis negativa de la arginina; y resistencia a 2 U de bacitracina. La prueba Chi cuadrado se utilizó para establecer diferencias en el recuento de *S. mutans* en los grupos con y sin caries.

#### Biotipificación de las cepas

La biotipificación de todas las cepas de *S. mutans* aisladas se realizó utilizando el sistema api-ZYM (bioMérieux, Marcy-l'étoile, France) de acuerdo a las instrucciones de los fabricantes. El sistema api-Zym es un micrométodo semicuantitativo de investigación que permite detectar rápida y simultáneamente 19 actividades enzimáticas a partir de pequeñas cantidades de inóculo de la bacteria. El sistema consta de una tira con 20 micropozos o cúpulas (1 control y 19 pruebas), cuya base contiene los sustratos enzimáticos y el buffer. La base permite el contacto entre la enzima del microorganismo y el sustrato generalmente insoluble. Los sustratos son inoculados con una suspensión densa de bacterias (turbidez 5-6 de McFarland) que rehidrata y ejerce acción enzimática sobre los sustratos contenidos. Los productos finales generados, durante un período de incubación de 4 horas, son detectados a través de reacciones coloreadas producidas después de la adición de reactivos. La biotipificación se realizó por duplicado y los biotipos se asignaron de acuerdo a la acción ejercida por las cepas de *S.*

*mutans* sobre los 19 sustratos del sistema.

#### Detección de mutacinas en las cepas *S. mutans* aisladas

La detección de mutacinas se realizó con el ensayo de doble capa en Agar BHI (infusión cerebro corazón), en el que se siembran las cepas que actúan como productoras y las cepas que actúan como indicadoras.

##### a. Preparación de las cepas productoras

Las cepas productoras son aquellas que van a tener acción sobre las cepas indicadoras. Con este fin, 2 a 3 colonias de cada cepa de *S. mutans* provenientes de Agar BHI fueron resuspendidas en caldo BHI (infusión cerebro corazón) y llevadas a incubación a 37°C en anaerobiosis ( $H_2:CO_2:N_2$  10:10:80) durante 48 horas. A partir de esta suspensión se hicieron siembras con micropipeta (2ul) sobre el Agar BHI (agar al 1,5% y extracto de levadura al 2%) y se llevaron a incubación a 37°C en atmósfera de  $CO_2$  durante 48 horas. Después de este tiempo de incubación se colocaron sobre las cepas productoras, las cepas indicadoras.

##### b. Preparación de las cepas indicadoras

Las cepas indicadoras son aquellas que van a sufrir la acción de las cepas productoras, y se eligieron de acuerdo a la frecuencia de los biotipos presentes. Con este fin, 2 a 3 colonias de cada cepa de *S. mutans* provenientes del Agar BHI fueron resuspendidas en caldo BHI y mantenidas en incubación a 37°C en anaerobiosis ( $H_2:CO_2:N_2$  10:10:80) durante 48 horas. Posteriormente se tomó 0.5 ml de esta suspensión, se mezcló con 5 ml de Agar BHI (agar al 0,75% y extracto de levadura al 2%) y se agregó inmediatamente sobre el agar BHI (agar al 1,5% y ex-

tracto de levadura al 2%) en el que están crecidas las cepas productoras preparadas en el paso anterior. Estas cajas de petri con Agar BHI en doble capa, en las que están sembradas tanto las cepas productoras como las indicadoras, fueron llevadas a incubación a 37°C en atmósfera de  $CO_2$  durante 48 horas. Al cabo de estas últimas 48 horas, la producción de mutacinas se refleja en la presencia de un halo de inhibición de la cepa productora sobre la cepa indicadora. Para establecer la producción de mutacinas se tienen en cuenta los halos de inhibición mayores de 4 m.m.

#### RESULTADOS

Treinta y cinco de los 53 niños incluidos en el estudio presentaron caries dental, por lo tanto, la experiencia de caries en esta población fue de 66%. *S. mutans* fue aislado en 33 de los 53 niños (62%). Únicamente 21 de los 33 niños (64%) en donde se encontró *S. mutans* presentaron caries. El recuento de *S. mutans* en la población en general fue variado y estuvo desde  $10^3$  hasta por arriba de  $10^7$  UFC/ml. No hubo diferencias estadísticamente significativas en el recuento de *S. mutans* entre los grupos con y sin caries ( $p>0.05$ ).

En la tabla 1 se describe el comportamiento de las 33 cepas de *S. mutans* frente a los sustratos del sistema api-Zym y los biotipos a que corresponden. Los biotipos se asignaron de acuerdo a la estandarización que hicieron Lamby *et al.*<sup>18</sup>. En total las cepas *S. mutans* se agruparon en 10 biotipos. En la tabla 2 se muestra la frecuencia de los biotipos encontrados en las 33 cepas. Los biotipos más frecuentes fueron el 10, el 15 y el 11, respectivamente, con 9, 8, y 4 cepas. En las cepas de *S. mutans* provenientes de pacientes con caries el biotipo más frecuente fue el 10 (n=7), y en las cepas de *S. mutans* provenientes de pacientes sin caries el biotipo más frecuente fue el 15 (n=3).

**Tabla 1**  
**Biotipos en las 33 cepas *S. mutans* incluidas en el estudio**

Cepa	sustratos utilizados del sistema api Zym																				Biotipo*
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	10
2	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	17
3	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	15
4	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	15
5	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	17
6	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	11
7	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	11
8	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	10
9	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	14
10	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	10
11	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	15
12	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	11
13	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	10
14	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	16
15	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	15
16	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	15
17	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	10
18	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	17
19	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	10
20	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	10
21	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	6
22	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	7
23	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	16
24	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	15
25	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	10
26	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	10
27	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	14
28	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	1
29	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	15
30	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	11
31	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	15
32	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	13
33	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	7

\* La asignación de los biotipos se hizo de acuerdo a la estandarización realizada por Lamby *et al.* <sup>18</sup>

**Tabla 2**  
**Frecuencia de biotipos en las 33 cepas *S. mutans* aisladas**

Biotipo	Cepas de pacientes con caries n=12	Cepas de pacientes sin caries n=21	Total
10	7	2	9
15	5	3	8
11	3	1	4
17	3	0	3
14	1	1	2
16	1	1	2
7	0	2	2
6	1	0	1
1	0	1	1
13	0	1	1

**Tabla 3**  
**Producción de mutacinas en las 33 cepas *S. mutans***

Cepas indicadoras Cepas productoras	Cepa 1 (biotipo 10)	Cepa 5 (biotipo 17)	Cepa 11 (biotipo 15)	Cepa 12 (biotipo 11)	Cepa 9 (biotipo 14)	Cepa 14 (biotipo 16)
1	-	-	-	-	-	-
2	+	+	+	+	+	+
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-
9	+	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	+	+	+	+	+	+
16	-	-	-	-	-	-
17	+	+	+	+	+	+
18	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-
20	+	+	+	+	+	+
21	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-
25	+	+	+	+	+	+
26	-	-	-	-	-	-
27	+	+	+	+	+	+
28	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-

- : Negativo, halo de inhibición menor a 4 m.m

+ : Positivo, halo de inhibición mayor a 4 m.m

Para detectar la producción de mutacinas, en todas las 33 cepas *S. mutans* aisladas, se utilizaron 6 cepas indicadoras. Las 6 cepas indicadoras fueron elegidas al azar y como las representantes de cada uno de los 6 biotipos más frecuentes encontrados en este trabajo. Del biotipo 10 se tomó la

cepa 1, del biotipo 17 se tomó la cepa 5, del biotipo 15 se tomó la cepa 11, del biotipo 11 se tomó la cepa 12, del biotipo 14 se tomó la cepa 9 y del biotipo 16 se tomó la cepa 14. De las 33 cepas evaluadas solamente 8 (24%) produjeron bacteriocinas (tabla 3). De estas 8 cepas, las cepas 2 (biotipo 17),

7 (biotipo 11), 9 (biotipo 14), 15 (biotipo 15), 17 (biotipo 10) y 20 (biotipo 10) provinieron de pacientes con caries; y las 2 cepas restantes, la 25 (biotipo 10) y la 27 (biotipo 14), provinieron de pacientes sin caries. De las 8 cepas productoras de bacteriocinas, el biotipo 10 estuvo presente con 3 cepas.

## DISCUSIÓN

El establecimiento, supervivencia y proliferación de un microorganismo en un nicho ecológico, en donde la competencia es muy intensa por la diversidad de especies presentes, se puede dar si éste logra desplazar o eliminar al microorganismo competente<sup>19</sup>. Durante muchos años se ha trabajado en la búsqueda de cepas *S. mutans* con capacidad para desplazar cepas nativas y virulentas de *S. mutans* productoras de caries dental<sup>20-22</sup>. Varios estudios indican que la capacidad de desplazamiento de cepas *S. mutans* se debe a la producción de bacteriocinas tipo mutacinas que confieren ventajas en la compleja ecología microbiana oral<sup>14, 23, 24</sup>.

El presente estudio determinó la producción de mutacinas en todas las cepas *S. mutans* que fueron aisladas, biotipificadas y que provinieron de pacientes con y sin caries.

Como se dijo anteriormente, en este trabajo se encontraron 8 cepas de *S. mutans* productoras de mutacinas, lo que representa un 24% de las 33 cepas evaluadas. Además las 8 cepas de *S. mutans* productoras de mutacinas tuvieron una actividad completa (100%) sobre todas las 6 cepas utilizadas como indicadoras. En el artículo "Diverse activity spectra of bacteriocin-like inhibitory substances having activity against Mutans Streptococci" de Balakrishnan *et al.*<sup>22</sup>, se informa del hallazgo de 39 cepas del grupo mutans productoras de bacteriocinas. Las 39 cepas productoras de bacteriocinas representan un 14,3% de las 272 cepas evaluadas. Esta baja frecuencia en la producción de bacteriocinas es consistente con la observación que se tiene de que las cepas de *S. mutans* son usualmente resistentes a las bacteriocinas derivadas de cepas estreptocócicas. En otro estudio<sup>25</sup> se informa del hallazgo de 254 (79,62%) cepas de *S. mutans*, aisladas de pacientes con y sin caries, productoras

de bacteriocinas que tienen diversidad de acción sobre las 12 cepas *S. mutans* utilizadas como indicadoras. La diversidad en la producción de las bacteriocinas de las cepas *S. mutans* evaluadas en los diferentes estudios probablemente sea debido a las diferentes condiciones en que se hacen las pruebas y la susceptibilidad propia de las cepas indicadoras utilizadas.

Con el fin de conocer las diferencias fenotípicas de las cepas *S. mutans* aisladas se realizó la biotipificación utilizando el sistema api-ZYM. El sistema api-ZYM ha sido utilizada con gran valor para tipificar cepas *S. mutans*<sup>26</sup> con base en la acción enzimática de las cepas frente a 19 sustratos del sistema. En el trabajo de Lamby *et al.*<sup>18</sup> realizado en niños entre los 3 y 6 años con caries dental incipiente se identificaron 17 biotipos, y el biotipo más frecuente fue el 15 con 10 cepas. En nuestro estudio las cepas *S. mutans* se agruparon en 10 biotipos y los dos biotipos más frecuentes fueron el 10 y el 15 con 9 y 8 cepas, respectivamente. El sistema api-ZYM permitió establecer diferencias interindividuo de forma clara y rápida.

Para la búsqueda de cepas *S. mutans* productoras de mutacinas se utilizaron 6 cepas indicadoras, representantes de los biotipos más frecuentes (biotipos 10, 15, 11, 17, 14, y 16) de la población estudiada, con el fin de poder tener un acercamiento más real del efecto de las mutacinas en las cepas que están en circulación.

En este trabajo se creía en encontrar un mayor número de cepas productoras de mutacinas. Sin embargo, el hallazgo de 8 cepas productoras de estas proteínas bactericidas es muy importante. Las cepas productoras de mutacinas, tienen en teoría una mayor capacidad de desplazar a otras cepas nativas de *S. mutans*, lo que las convierte en candidatas para ser utilizadas

en el control microbiológico de la caries dental.

Con el hallazgo de estas 8 cepas de *S. mutans* productoras de mutacinas se deberá continuar trabajando. Los trabajos a seguir involucran la tipificación molecular de las cepas, la caracterización química y molecular de las mutacinas y la evaluación de su actividad en los modelos animal y humano, con el fin de ver su acción en la erradicación o desplazamiento de otras cepas de *S. mutans*.

En conclusión: 1. En las 33 cepas estudiadas se encontraron 10 biotipos diferentes; 2. Los biotipos más frecuentes fueron el 10, el 15 y el 11 con 9, 8, y 4 cepas respectivamente; 3. De las 33 cepas de *S. mutans*, 8 cepas (24%) fueron productoras de mutacinas; Después de otros estudios estas cepas productoras de mutacinas tienen un gran potencial para ser utilizadas en control microbiológico para la eliminación de la caries dental.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren expresar un sincero agradecimiento a la Vicerrectoría Académica de la Pontificia Universidad Javeriana por financiar este estudio a través del proyecto de investigación "Biotipificación y detección de bacteriocinas en cepas *S. mutans*".

## BIBLIOGRAFÍA

1. Herazo B. Morbilidad bucodental colombiana: Universidad Nacional de Colombia y Ministerio de Salud. Bogotá: Ediciones Ecoe; 1995.
2. Loesche WJ. *Role of Streptococcus mutans in human dental decay*. Microbiol Rev 1986; 50: 353-80.
3. Lang NP, Hotz PR, Gusberti FA, Joss A. *Longitudinal clinical and microbiological study on the relationship between infection with Streptococcus mutans and the development of caries in human*. Oral Microbiol Immunol 1987; 2: 39-47.
4. Bighton D, Manji F, Baelum V, Fejerskov O, Johnson NW, Wilton JM. *Associations between salivary levels of Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, lactobacilli, and caries*

- experience in Kenyan adolescents. *J Dent Res* 1989; 68: 1242-6.
5. van Houte J, Sansone C, Joshipura K, Kent R. *Mutans streptococci and non-mutans streptococci acidogenic at low pH, and in vitro acidogenic potential of dental plaque in two different areas of the human dentition.* *J Dent Res* 1991; 70: 1503-7.
  6. Gamboa F, Herazo B, Martínez MC. *Control microbiológico sobre Streptococcus mutans y su acción acidogénica.* *Univers Scient* 2004; 9: 45-55.
  7. Hamada S, Slade HD. *Biology, immunology and cariogenicity of Streptococcus mutans.* *Microbiol Rev* 1980; 44: 331-84.
  8. Hamada S, Ooshima T. *Production and properties of bacteriocins (mutacins) from Streptococcus mutans.* *Arch Oral Biol* 1975; 20: 641-48.
  9. Rogers AH. *Bacteriogeny and the properties of some bacteriocins of Streptococcus mutans.* *Arch Oral Biol* 1976; 21: 99-104.
  10. Kamiya RU, Napimoga MH, Rosa RT, Höfling JF, Goncalves RB. *Mutacin production in Streptococcus mutans genotypes isolated from caries-affected and caries-free individuals.* *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20: 20-4.
  11. Tagg JR, Dajani AS, Wannamaker LW. *Bacteriocin of gram-positive.* *Bacteriol Rev* 1976; 40: 722-56.
  12. Hillman JD; Dzuback AL, Andrews SW. *Colonization of the human oral cavity by a Streptococcus mutans mutant producing increased bacteriocin.* *J Dent Res* 1987; 66: 1092-4.
  13. Hillman JD, Johnson KP, Yaphe BI. *Isolation of a Streptococcus mutans strains producing a novel bacteriocin.* *Infect Immun* 1984; 44: 141-4.
  14. Rogers AH, van der Hoeven JS, Mikx FHM. *Effect of bacteriocin production by Streptococcus mutans on the plaque of gnotobiotic rats.* *Infect Immun* 1979; 23: 571-6.
  15. Fabio U, Bondi M, Manicardi G, Messi P, Neglia R. *Production of bacteriocin-like substances by human oral streptococci.* *Microbiológica* 1987; 10: 363-70.
  16. Fure S. *Five year incidence of caries, salivary and microbial conditions in 60-, 70- and 80-year-old swedish individuals.* *Caries Res* 1988; 32: 166-74.
  17. Emilson CG. *Prevalence of Streptococcus mutans with different colonial morphologies in human plaque and saliva.* *Scandinavian J Dent Res* 1981; 91: 26-32.
  18. Lamby CP, Gamboa F, Chaves M, Valdivieso C. *Fenotipificación bioquímica del Streptococcus mutans en cavidad bucal en población escolar de Cota, Cundinamarca.* *Tribuna Odontol* 2005; 2: 73-7.
  19. Dykes GA. *Bacteriocins: ecological and evolutionary significance.* *Trends Ecol Evol* 1995; 10: 186-9.
  20. Hillman JD, Socransky SS. *Replacement therapy for the prevention of dental disease.* *Adv Dent Res* 1987; 1: 119-25.
  21. Hillman JD, Brooks TA, Michalek SM, Harmon CC, Snoep JL, van Der Weijden CC. *Construction and characterization of an effector strain of Streptococcus mutans for replacement therapy of dental caries.* *Infect Immun* 2000; 68: 543-9.
  22. Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. *Diverse activity spectra of bacteriocin-like inhibitory substances having activity against Mutans Streptococci.* *Caries Res* 2001; 35: 75-80.
  23. Weerkamp A, Bongaerts-Larik L, Vogels GD. *Bacteriocins as factors in the in vitro interaction between oral streptococci in plaque.* *Infect Immun* 1977; 16: 773-80.
  24. van der Hoeven JS, Roger AH. *Stability of the resident microflora and the bacteriocinogenicity of Streptococcus mutans as factors affecting its establishment in specific pathogen-free rats.* *Infect Immun* 1979; 23: 206-12.
  25. Kamiya RU, Napimoga MH, Rosa RT, Höfling JF, Goncalves RB. *Mutacin production in Streptococcus mutans genotypes isolated from caries-affected and caries-free individuals.* *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20: 20-4.
  26. de La Higuera Angustias, Gutiérrez J, Liébana J, García-Mendoza A, Castillo A. *A new biotyping method for Streptococcus mutans with the api-ZYM system.* *Clin Microbiol Infect* 1999; 5: 88-91.

## CORRESPONDENCIA

Fredy Gamboa  
Pontificia Universidad Javeriana  
Departamento de Microbiología  
(Facultad de Ciencias) y  
Centro de Investigaciones  
Odontológicas  
(Facultad de Odontología)  
Carrera 7ª # 40-62  
Tel.: 3208320 ext.: 2899  
Fax: 3208320 ext.: 2884  
Bogotá, D.C., Colombia  
Correo electrónico  
gamboa@javeriana.edu.co

Recibido para su publicación:  
abril de 2006

Aceptado para su publicación:  
junio de 2006