

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

DIVISIÓN DE POSGRADOS E INVESTIGACIÓN

MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

TESIS

“Asociación entre la experiencia de caries y la presencia de *Streptococcus* del tipo *mutans* en niños de 3 a 5 años que acuden a la clínica de estomatología pediátrica de la FEBUAP, 2016”

Que para obtener el Grado de:

MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON TERMINAL EN PEDIATRÍA

PRESENTA

C.D. Erika Christell Pacheco Armas

I.D. 215450018

DIRECTOR DISCIPLINARIO

M.E.P. Nila Claudia Gil Orduña

I.D. 2016013

DIRECTOR METODOLÓGICO

Dr. Cristian Dionisio Román Méndez

I.D. 100392244

ASESOR

M.E.P. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana

I.D. 100226199

LECTOR

M.E.P. Gabriel Muñoz Quintana

I.D. 100191044

Abril, 2017.

Resumen

Es bien conocido el hecho de que la caries es una enfermedad infecciosa transmisible y que se puede prevenir, sin embargo existen varios factores que contribuyen a su aparición en cavidad oral, por ello el objetivo de este estudio fue determinar la asociación entre la experiencia de caries y la presencia de *Streptococcus* del tipo *mutans* en niños de 3 a 5 años que acuden a la clínica de estomatología pediátrica de la FEBUAP. Estudio analítico, prospectivo, transversal, observacional. Se incluyeron 31 niños de 3 a 5 años de edad que acudieron a la clínica del posgrado de estomatología pediátrica. El muestreo fue no probabilístico por conveniencia, se realizó historia clínica con consentimiento informado en donde se llenó un formato utilizando el índice ICDAS, por medio de saliva en el laboratorio se realizaron conteos de UFC/ml y se recolectó placa dentobacteriana para determinar la presencia de *S. mutans* y *S. sobrinus* por medio de PCR. Los resultados demostraron que mediante el análisis ICDAS la mayor prevalencia se encontró en el código 0, 1 y 6; los niños de la población presentaron un riesgo a caries medio con conteos de 10^5 y 10^6 UFC/ml, y la principal especie identificada por PCR fue el *S. mutans*. Por lo cual concluimos que hay asociación entre el historial de caries y la presencia de estreptococos del tipo mutans, es de suma importancia conocer el nivel de riesgo de cada niño y reducir los índices de caries desde el inicio de la misma, además de implementar programas para educar a los padres de familia acerca de esta enfermedad.

Introducción

Uno de los problemas de salud más prevalentes que afectan al ser humano es la caries. La caries es una enfermedad infecciosa, crónica y transmisible, que causa la destrucción localizada de los tejidos dentales duros por los ácidos producidos por los microorganismos adheridos a los dientes. Estas lesiones por tanto, son causadas por bacterias orales que pertenecen a una comunidad compleja de numerosas especies que participan en la formación de la placa dentobacteriana, a su vez metabolizan el sustrato, por su capacidad acidógena, determinan un descenso del pH y causan la desmineralización dental. Esta puede afectar a varios tipos de tejidos: esmalte, dentina y pulpa.¹

Están presentes más de 700 especies bacterianas identificables en la cavidad oral humana, el *Streptococcus mutans* es el principal microorganismo que se presenta en la cavidad oral con la erupción del primer órgano dentario.²

El presente estudio pretende diagnosticar las lesiones cariosas a través de los criterios de ICDAS, el cual detecta y clasifica la lesión cariosa no cavitada y cavitada del esmalte; en base a ello podremos evaluar la experiencia de caries y considerando lo anterior, cuantificar la presencia de *streptococcus* del tipo *mutans* y evidenciar la utilidad del índice ICDAS para identificar la enfermedad desde sus primeras manifestaciones clínicas, proporcionando pautas para elaborar programas de salud bucal para proveer tratamientos preventivos y limitar el daño por caries en poblaciones de iguales características a las que serán sujeto de este estudio y poder de esta manera disminuir la incidencia de caries.

Marco Teórico

Antecedentes Generales

Caries Dental

La caries dental es una enfermedad infecciosa, transmisible que da como resultado la destrucción progresiva de la estructura del diente por bacterias patógenas generadoras de ácido, debido a la acción de microorganismos sobre los carbohidratos fermentables provenientes de la dieta. La infección da lugar a la pérdida mineral del diente que comienza en su superficie más externa y puede progresar de forma centrípeta a través de la dentina hacia la pulpa dental, comprometiendo en última instancia la vitalidad del diente. Caries es un término que se utiliza para denominar tanto el proceso de descomposición del diente, como la lesión que es consecuencia del proceso; este se efectúa en la película biológica adherida a la estructura dental y es la interacción entre el proceso de descomposición y la película adherida a la estructura dental lo que da por resultado la lesión del diente.³

La caries es un proceso constante que se compone de varios ciclos de desmineralización. La desmineralización inicia a un nivel atómico en las superficies de los cristales dentro del esmalte y la dentina, y puede continuar hasta su punto final que sería la cavitación, por lo tanto existe la posibilidad de revertir o detener el progreso de la lesión. La re-mineralización es el remplazo de los minerales que el diente ha perdido previamente y su consecuente reparación. En los últimos años el proceso de caries se ha definido de mejor manera considerando varios aspectos como el microbiológico, la cinética de la desmineralización, la posibilidad de revertir este proceso conocido como re mineralización así como los factores que contribuyen a esto.⁴

El desarrollo de caries debe involucrar factores indispensables en el que haya un huésped susceptible, una flora oral cariogénica, y un substrato apropiado que deberá estar presente durante un periodo determinado de tiempo. El proceso de desmineralización del esmalte dental se debe a las altas concentraciones de ácidos orgánicos producidos por las bacterias en la placa dental.⁵

La morfología dental constituye uno de los agentes multicausales que contribuyen al desarrollo de la caries. Cada diente se compone de una corona que se extiende en la cavidad oral y está bañado por saliva y una parte de la raíz que está unido por las fibras de colágeno de la membrana periodontal. Las superficies oclusales, de los dientes premolares y molares, están atravesados por surcos de desarrollo o fisuras que están colonizadas por una flora escasa en relación a las superficies lisas y proximales. Muchos organismos pueden colonizar en las fisuras, que proporcionan una retención mecánica para las bacterias. La flora oral normal de cada uno contiene microorganismos que son capaces de metabolizar los hidratos de carbono fermentables, lo que lleva a la producción de una variedad de productos de ácido láctico, acético y fórmico. La dieta puede ejercer un efecto local sobre la caries en la boca al reaccionar con la superficie del esmalte y al servir como sustrato para microorganismos cariogénicos. En esencia, existe un equilibrio dentro de la placa dental mediante el cual el pH de este biofilm disminuye cada vez que el huésped ingiere una comida que contiene hidratos de carbono fermentables, que son metabolizados por los microorganismos dentro de la placa dental, y después de algunos minutos el pH vuelve al nivel de reposo o normal debido a que la saliva contiene calcio y fosfatos. Se considera al tiempo como un factor modulador o secundario, que resulta determinante en la producción de caries, pues si los factores etiológicos interactúan durante más tiempo, los fenómenos de desmineralización ocurren fácilmente, caso contrario si tal interacción dura menos, dichas manifestaciones no alcanzarían a producirse.⁶

La resistencia a la caries puede depender de la estructura intrínseca y la composición de los dientes, del medio predominante en la cavidad bucal y de factores generales. La configuración de la superficie del diente y los procesos fisiológicos internos influyen en su resistencia al ataque y en el progreso de la caries. La saliva puede influir en el medio bucal por factores tales como su capacidad de neutralización, la abundancia de la secreción y la concentración de iones de hidrógeno, así como la acción de enzimas salivales, de anticuerpos y de sustancias de gran peso molecular.⁷

Saliva

La saliva es una solución súper saturada en calcio y fosfato que contiene flúor, proteínas, enzimas, agentes buffer, inmunoglobulinas y glicoproteínas, entre otros elementos de gran importancia para evitar la formación de caries.

La saliva es esencial en el balance ácido-base de la placa. Las bacterias acidogénicas de la placa dental metabolizan rápidamente a los carbohidratos y obtienen ácido como producto final. El pH decrece rápidamente en los primeros minutos después de la ingestión de carbohidratos para incrementarse gradualmente; se plantea que en 30 minutos debe retornar a sus niveles normales. Para que esto se produzca debe actuar el sistema *buffer* de la saliva, que incluye bicarbonato, fosfatos y proteínas. El pH salival depende de las concentraciones de bicarbonato; el incremento en la concentración de bicarbonato eleva el pH.⁸

Las macromoléculas salivales están involucradas con la formación de la película salival. Se demostró que las proteínas ricas en prolina interactúan con la superficie del diente, formando una capa protéica que se deposita sobre el mismo, denominada *película adquirida*, la cual está involucrada en procesos importantes como la protección de la superficie dentaria, su re-mineralización y la colonización bacteriana. En la saliva además de proteínas, se han aislado péptidos con actividad antimicrobiana. Se considera que además de la defensa de la superficie de la cavidad bucal, pudieran inhibir la formación de la placa dental bacteriana y, por lo tanto, el desarrollo de la caries dental.⁹

Colonización Bacteriana

El paso más importante para que se produzca la caries, es la adhesión inicial de las bacterias a la superficie del diente. Esta adhesión está mediada por la interacción entre una proteína del microorganismo y algunas de la saliva que son adsorbidas por el esmalte dental. Para la colonización bacteriana, es imprescindible la formación previa de una fina película de proteínas salivales sobre la superficie del diente: la ya mencionada película adquirida. La interacción se produce en cierta medida a través de cargas electrostáticas, la carga eléctrica de las proteínas se

relaciona con la presencia de grupos ionizables en sus aminoácidos constituyentes.¹⁰

La presencia de microorganismos capaces de producir ácido suficiente para descalcificar la estructura del diente es necesaria para el proceso de caries dental. En los últimos años se ha implicado al *Streptococcus mutans* (SM) como el principal y más virulento microorganismo responsable de la caries dental, sin embargo, microorganismos como el *Lactobacillus sp*, *Actinomyces SP*, y otros tipos de *Streptococcus* también participan, pero su rol es de menor importancia.¹¹

El *Streptococcus mutans* no se encuentra en la cavidad oral del recién nacido y sólo se detecta tras el inicio de la erupción de los dientes temporales. Al aparecer las piezas dentales en la boca, es posible que sobre ellas ocurra la formación de la placa bacteriana, estructura microbiana considerada como el principal agente causal en la mayoría de las enfermedades dentarias, pulpares y periodontales. La placa bacteriana puede definirse como un ecosistema compuesto de estructuras microbianas agrupadas densamente, glucoproteínas salivales insolubles, productos microbianos extracelulares y en menor proporción detritus alimentario y epitelial, firmemente adherido a la superficie dentaria.¹²

El contagio de la boca del niño, por bacterias cariogénicas provenientes de la saliva de los adultos, especialmente la madre, se produce principalmente al erupcionar los órganos dentarios. Existirían períodos críticos de susceptibilidad, por lo que se ha empleado el término "ventanas de infectividad" para graficar este momento, el que se produciría entre los 6 y los 24 meses y entre los 6 y 11 años del niño, coincidiendo con los períodos de aparición de las piezas dentarias en la boca. Se ha demostrado que mientras más precoz es la colonización de la boca del niño por las bacterias cariogénicas, mayor es el riesgo de tener caries a corto plazo.¹³

Los microorganismos implicados en la etiología de la caries dental son acidogénicos y aciduricos. Para iniciar las lesiones de caries en esmalte, los microorganismos también deben ser capaces de colonizar la superficie del diente y sobrevivir en competencia con especies menos nocivas. En 1960, Fitzgerald y Keyes demostró que la caries dental es una enfermedad infecciosa y transmisible, valiéndose de

experimentos con hámsters, a los que separó en dos grupos, uno comprometido con la enfermedad y otro exento de ella. Hay abundante soporte a la llamada hipótesis de la placa específica, introducida por Loesche, el cual propone que algunas especies específicas de la flora de la placa son consideradas como mayor patógeno en la etiología de la caries. Los principales patógenos incluyen a aquellas bacterias asociadas con caries en los seres humanos y también capaces de inducir lesiones cariosas en animales experimentales. Los más importantes son los *streptococos* del tipo *mutans* que consta de siete especies, de las cuales *S. mutans* y *S. sobrinus* se asocian a la caries en humanos. La relación de *S. sobrinus* a caries en humanos no está bien entendida como la que existe entre *S. mutans* y caries, y solo algunos estudios identifican las especies separadas. También asociado con la etiología de la caries, pero considerados menos criogénicos están *Lactobacillus* sp, *Actinomyces* y *Actinomyces naeslundii*.¹⁴

Streptococcus mutans

En 1924 J.K. Clarke, en Inglaterra, aisló cierto microorganismos a partir de lesiones cariosas, que el denominó *Streptococcus mutans*, debido a que con la tinción de Gram se observaban de forma más ovalada que redondeada, por lo que considero que estas bacterias eran mutantes de este género. Los *Streptococcus mutans* se caracterizan por ser cocos Gram positivos, presentan un diámetro de 0.5 a 0.75 µm, se encuentran en cadenas, esta bacteria es anaerobia facultativa, no forma esporas y fermenta el manitol, sorbitol. El *Streptococcus mutans* posee muchas cualidades que lo favorecen para ser el microorganismos mejor adaptado en el proceso carioso, incluye la capacidad para adherirse a las superficies dentales, esta acción esta mediada por la interacción entre una proteína del microorganismo (PAc) y algunas de la saliva que son adheridas al esmalte dental, además de la producción de polisacáridos extracelulares (mutanos), a partir de los carbohidratos provenientes de la dieta produce rápidamente ácido láctico (acidogenicidad), lo cual hace que baje el pH de 6.8 a 3.4 y empiece la desmineralización del esmalte dental. El medio más empleado para el aislamiento de *Streptococcus mutans* en el laboratorio es el agar mitis salivarius suplementado con sacarosa al 2%, que permite la diferenciación morfológica de las colonias de *S. mutans*.¹⁵

Teorías de la formación de caries

A. Teoría acidógena

Propuesta por Willoughby Miller en 1890, esta teoría afirma que la caries es el resultado de un proceso químico y microbiano que conduce a la disolución del esmalte, donde los gérmenes provocan la degradación del azúcar, los ácidos y estos fermentos provocan la descalcificación de la hidroxiapatita del esmalte.

B. Teoría proteolítica

La teoría de la proteólisis fue propuesta por Gottlieb en 1944. La teoría propone que las enzimas proteolíticas liberadas por las bacterias de la cavidad oral podrían destruir la matriz orgánica del esmalte. Considera dos fases: en la primera hay una destrucción de la matriz orgánica por las enzimas proteolíticas bacterianas. En la segunda fase hay una disolución de los cristales de hidroxiapatita, por la acción de los ácidos orgánicos procedentes de la degradación proteolítica.

C. Teoría de la proteólisis – quelación

La teoría proteólisis - quelación, propuesta por Schatz y Martinen 1955. La teoría sugiere que existe la posibilidad de que la desmineralización pueda producirse sin formación de ácidos, ya que la quelación ocurre con valores de pH neutros o alcalinos los cuales destruyen la hidroxiapatita.

D. Teoría ecológica

Propuesta por Marsh en 1994, establece que el proceso se desencadena por un desequilibrio en la flora microbiana normal del biofilm dental, hacia una flora acidogénica. Este desequilibrio ecológico se inicia por la acción de un factor desencadenante (stress), que corresponde a un exceso de ingesta de sacarosa, lo que genera ácidos. La baja de pH mantenida en el tiempo, hará cambiar la flora hacia una flora acidogénica, acidurica y acidófila; lo anterior, involucrará el inicio del proceso de caries, pasando de un estado de salud al de enfermedad.¹⁶

Cuando analizamos la progresión de una lesión de caries podemos identificar diferentes estadios o etapas de avance, en las superficies lisas del esmalte, la lesión

se identifica como una zona blanquecina, yesosa, con pérdida de translucidez que puede afectar uno o varios dientes. También se puede presentar una acentuación de los periquimatos, que son las terminales externas de las estrías de Retzius y se ven como estructuras agrietadas de la superficie del esmalte. En aquellos lugares en los que la caries ha progresado más lentamente o se ha detenido, se puede observar en el esmalte una pigmentación de color pardo o amarillo. Las lesiones en la superficie lisa cuando se seccionan longitudinalmente, tienen forma de cono con el ápice dirigido hacia la dentina.¹⁷

Las lesiones incipientes de caries en el esmalte consta de cuatro superficies, estas son: la zona translúcida, la zona oscura, el cuerpo de la lesión y la capa externa, que se enuncian respectivamente:

Zona superficial

Es una franja permeable a la entrada de los productos bacterianos, especialmente a los ácidos. Presenta una porosidad del 5% y una pérdida de minerales de la zona superficial en rango de un 5%.

Cuerpo de la Lesión

Ocupa la mayor parte de la lesión del esmalte, se extiende por debajo de la zona superficial o capa de Darling hasta la zona oscura. En esta zona, la desmineralización es más rápida, aumenta la solubilidad de los cristales y también la porosidad. En el centro su porosidad alcanza un 25% o más y la pérdida de mineral es la más alta, entre un 18 y 50%.

Zona oscura u opaca

Es una banda ubicada por debajo del cuerpo de la lesión. Presenta una porosidad de 2 a 4% de su volumen y una pérdida de minerales de 5 a 8%.

Zona translúcida

Se ubica en la zona más profunda de la lesión, que corresponde al frente de avance o de ataque interno. Esta zona es más porosa que el esmalte sano, siendo su

porosidad de un 1% en contraste con el 0,1% del esmalte no afectado. Presenta pérdida de mineral de 1,0 a 1,5%

Lesión cavitada en esmalte

Cuando el esmalte llega a presentar cavidad las bacterias invaden la dentina en forma generalizada progresando la lesión mucho más rápido definiendo tres frentes de avance que se pueden identificar desde la superficie hacia la profundidad y que a continuación se describen:

Lesión en dentina

Cuando la lesión cariosa alcanza el límite amelodentinario, independientemente de que exista la presencia de cavidad o no, la lesión del esmalte altamente porosa, permite una difusión posterior de los productos ácidos bacterianos hacia los túbulos dentinarios, puesto que en estas áreas el proceso continuará ya que existe un mayor depósito de bacterias especialmente de especies anaeróbicas y acidogénicas, aumentando de forma progresiva esta destrucción.

Caries detenida o arrestada

Una lesión que no está sufriendo una pérdida mineral neta; es decir, el proceso de caries en una lesión específica ya no está avanzando. Es una «cicatriz» de una enfermedad del pasado. Las observaciones clínicas que hay que tener en cuenta al evaluar la actividad de una lesión de caries se basan en una modificación de los criterios de actividad e incluyen la apariencia visual, la sensación al tacto y el potencial de acumulación de placa. La lesión suele estar inactiva cuando la superficie del esmalte es blanquecina, marrón o negra; el esmalte puede estar brillante y resulta duro y liso cuando se pasa con cuidado la punta de la sonda por la superficie.¹⁸

Caries de la infancia temprana

Es la presencia de una o más superficies cariadas (con o sin lesión cavitaria), superficies perdidas (debido a caries) o superficies obturadas en cualquier diente deciduo de un niño entre el nacimiento y los 71 meses de edad.¹⁹

Desde el punto de vista microbiológico, el desarrollo de la Caries de la infancia temprana puede ser dividido en tres etapas:

1. Infección primaria por *S. mutans*
2. Acúmulo de microorganismos (*S. sobrinus* y lactobacilos) por la exposición prolongada a sustratos cariogénicos.
3. Rápida desmineralización del esmalte y cavitación de la estructura dental

El diagnóstico tanto de la presencia como de la extensión y actividad del proceso de la enfermedad causada por la caries, es un requerimiento fundamental en los problemas de salud, para su diagnóstico se han desarrollado diferentes métodos de detección de caries que hacen énfasis en la medición de lesiones tempranas de caries. La determinación de los índices de caries en niños en edad escolar debe ser ideal para la detección de caries inicial además debe ser exacto, preciso y aplicable para todas las superficies de los dientes. Las nuevas metodologías para detectar las lesiones cariosas incluyen sistemas que mejoran el registro de las ya existentes, o la incorporación de nuevos métodos, en el caso de la inspección visual se desarrolló el Sistema Internacional de Detección y Medición de Caries (ICDAS).²⁰

Este sistema es un conjunto unificado de criterios que se pueden utilizar para describir las características de las lesiones en el esmalte y la dentina de dientes, limpios, secos, y evaluar su actividad. Este método fue desarrollado por 13 odontólogos durante los años 2002 a 2004. Debido a que no había un consenso entre lo medido en Europa y lo medido en América, ya que el sistema americano tomaba en cuenta solo las lesiones cavitadas,²¹ se decidió realizar una reunión en Baltimore con representantes especialistas en cariología de Europa y Estados Unidos realizado en Marzo del 2005. La importancia de este índice es que tiene tres tipos de utilidades: para la práctica clínica, para estudios epidemiológicos y para la investigación clínica.²²

Los criterios para la detección: el ICDAS determina la gravedad de la lesión y permite al profesional establecer el grado de desarrollo de la enfermedad dental y el nivel de actividad, usando cifras que van de 0 (salud dental) a 6 (cavitación

extensa). Las características y actividad de las lesiones, incluyen el color de los dientes, desde el blanco hasta el amarillento; la apariencia: sin brillo y opacidad; sensación de rugosidad al desplazar lentamente el explorador; el hallazgo de áreas de estancamiento de la placa y áreas con huecos o fisuras, cerca del borde gingival o por debajo del punto de contacto.

Códigos de Detección de caries

A continuación se presenta los códigos de detección de caries coronal con el rango de 0-6 según la superficie dental.²³

Código 0: Superficie dental sana, sin evidencia de caries dental. También, superficies con defectos de desarrollo como hipoplasia del esmalte, fluorosis, desgastes dentarios (atriciones, abrasiones, erosiones) tinciones intrínsecas o extrínsecas, deben ser consideradas como sanas. También se puede colocar como sano superficies con fisuras múltiples, siendo una condición que se vean en otras fosas y fisuras.

Código 1: Primer cambio visual en el esmalte. Cuando el esmalte está mojado no hay evidencia de cambio de color atribuido a caries, pero después de un secado prolongado (5s) se observa opacidad o decoloración (blanca o marrón).

Código 2: Cambio visual distinguible en esmalte. Hay una opacidad cariosa o decoloración cuando la superficie dental está húmeda.

Código 3: Pérdida de estructura dental debido a caries, localizada en el esmalte, sin dentina visible. El diente húmedo puede tener una opacidad cariosa que es más amplia que la fosa y fisura natural, no consistente con la apariencia de esmalte sano. Una vez secado, hay pérdida de estructura dental por caries a la entrada o dentro de la fosa y fisura.

Código 4: Superficie no cavitada con sombra oscura subyacente desde la dentina. Esta lesión aparece como una sombra o decoloración de la dentina visible con el esmalte aparentemente sano, el cual puede o no presentar signos de ruptura localizada. La sombra es frecuentemente más fácil de localizar cuando el diente está húmedo.

Código 5: Superficie cavitada con dentina visible. Cavidad en esmalte opaco o descolorido, exponiendo la dentina.

Código 6: Cavidad extensa distintiva con dentina visible: Hay evidente pérdida de estructura dental, la cavidad es a la vez profunda y ancha, y la dentina es claramente visible en las paredes y la base.

Protocolo de examen (ICDAS).- Se propone para el examen los siguientes pasos:²⁴

1. Pedir al paciente que se retire cualquier aparato removible.
2. Limpiar (como mínimo con cepillo dental, también se puede realizar profilaxis profesional).
3. Rollos de algodón en el carrillo (sí se considera necesario).
4. Remover exceso de saliva (con la jeringa triple).
5. Hacer examen visual de la superficie HÚMEDA (iniciando desde el cuadrante posterior superior derecho y siguiendo en dirección a las agujas del reloj).
6. Secar la superficie por 5 segundos.
7. Hacer inspección visual de la superficie seca (observación de lesiones tempranas de mancha blanca).
8. Sí es necesario usar explorador de punta redonda.

Antecedentes específicos

Aguilera et al, (2003) realizó un estudio cuyo objetivo fue detectar e identificar una secuencia de 192 pb del gene *spaP* para evaluar la presencia de cepas de *S. mutans* potencialmente cariogénicas, usando DNA aislado de muestras de placa dental y establecer una relación con el índice CPOD. Se tomó una muestra de placa dental a 38 niños de ambos sexos, con una edad promedio de 5.7 (+ 1.2) años de edad que acuden en forma voluntaria a las instalaciones de la clínica de la Especialidad en Odontopediatría de la Universidad Autónoma de Zacatecas (UAZ). Se les determinaron los índices odontológicos CPOD (dientes cariados perdidos y obturados) e IHOS (índice de higiene oral simplificado). Se estudiaron 38 sujetos al azar, de los cuales 29 presentaron caries dental y 9 sujetos sanos, en edades de 3 a 7 años. Los valores del CPOD encontrados en este grupo de estudio son de 0 a 20 con una media de 4.2, y en el caso del IHOS de 0 a 2.5 con una media de 2; en el caso del CPOD un alto porcentaje, 28.94% del total de pacientes, presenta valores de 3 a 5 y solamente un 7.89 mayores de 10. Para el IHOS el 55% del grupo de estudio presenta valores de 1 a 2 y sólo un 2.63% de cero. De acuerdo con la presencia de caries, se encontró que 29 positivos para *spaP*, 12 tienen caries de primer y segundo grado, 5 de tercer grado, 2 de cuarto y 7 no presentaron lesiones. Los resultados sugieren que es más importante la presencia de *S. mutans* con potencial cariogénico que la acumulación de placa.²⁵

Un estudio realizado por Aas et al, (2005), en donde se analizaron nueve sitios diferentes en boca de cinco sujetos clínicamente sanos. Los sitios incluidos son: dorso de la lengua, bordes laterales de lengua, epitelio bucal, paladar duro, paladar blando, placa supragingival de las superficies dentales, placa subgingival, vestíbulo anterior maxilar y amígdalas. Los genes de rRNA 16S del ADN de la muestra fueron amplificados, reproducidos y transformados. Se utilizaron secuencias de genes de rRNA 16S para determinar la identidad de la especie. Fueron detectadas en 2.589 clones, 141 especies predominantes, más 60% no han sido cultivadas. Trece nuevos filotipos fueron identificados. Especies comunes a todos los sitios pertenecieron al género *Gemella sp*, *Granulicatella sp*, *Streptococcus sp* y

Veillonella sp. La mayoría de los sitios poseía 20 a 30 especies predominantes y el número de especies predominantes de todos los nueve sitios por persona osciló entre 34 y 72. No se detectaron especies típicamente asociadas a periodontitis y caries.²⁶

Corby et al, (2005), estudiaron por PCR transcriptasa reversa (RtPCR), las especies bacterianas asociadas con caries dental y libre de caries en un grupo de 204 individuos, en edades comprendidas entre 1,5 y 7 años de edad. Se analizaron un total de 448 muestras de placa dental, 118 recolectadas de sujetos libres de caries y 330 recolectadas de sujetos con caries. Se diseñaron dos modelos de estudio, en el primer modelo se compararon las bacterias encontradas en la placa dental de sujetos con caries en esmalte y en lesiones con diferentes grados de severidad (lesión de mancha blanca, lesión cavitada en esmalte y lesión cavitada en dentina). En el segundo modelo se compararon las especies bacterianas encontradas en la placa dental de sujetos libres de caries con las especies bacterianas encontradas en la placa dental. En ambos modelos hubo coincidencia en cuanto a la abundancia de microorganismos asociados con caries, siendo identificadas bacterias Gram-positivas, tales como: *Actinomyces*, *Lactobacillus* y *S.mutans*, mientras que los sujetos libres de caries presentaron abundancia de otras bacterias tales como: *S. parasanguinis*, *Abiotrophia defectiva*, *Gemella haemolysans*, *S.mitis/oralis*, *Streptococcus cristatus* y *S. sanguinis*.²⁷

Un estudio realizado por Franco et al, (2007), con el objetivo de detectar reacción de polimerasa en cadena (PCR), si la presencia de *S. mutans* y *S. sobrinus* se relaciona con la incidencia de caries dental en 42 niños preescolares brasileños. Se recogieron muestras de placa dental del margen cervical de los dientes erupcionados de los niños de 5-6 años de edad con dentición primaria, usando un explorador estéril. Se realizó examen de los índices de CPOD (dientes cariados, perdidos, obturados), siguiendo los criterios de diagnóstico de caries de la Organización Mundial de la salud (OMS) los cuales mostraron una puntuación 2.71. La prevalencia de *S. mutans* y *S. sobrinus* fue de 85.7% y 14.3% respectivamente. La reacción en cadena demostró tener buena capacidad discriminativa para la

diferenciación entre estas especies y sugiere que es una técnica conveniente para estudios epidemiológicos sobre estreptococos mutans.²⁸

En un estudio realizado por Salazar et al (2008) tuvo como objetivo implementar la metodología de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar la presencia de *S. mutans* y *S. sobrinus* en saliva; en donde participaron 51 escolares (5 a 17 años), provenientes de cinco diferentes colegios de la ciudad de Temuco; a los cuales se les realizó recuento de estreptococos del grupo mutans en saliva por método microbiológico y diferenciación de especies por la técnica de PCR. Los resultados mostraron que la sensibilidad para la técnica de PCR fue 1000 UFC/ml de saliva, diez veces superior a la sensibilidad del método microbiológico utilizado (10.000 UFC/mL). Además, el análisis de la especificidad de la amplificación, evaluada por restricción enzimática, confirmó la presencia de las bacterias investigadas. La prevalencia de *S. mutans* fue de 88.2% y para *S. sobrinus* de 11.8%. La presencia conjunta de ambas bacterias fue observada en 7.8% de los individuos. En conclusión, podemos señalar que la metodología implementada es útil para la detección rápida de *S. mutans* y *S. sobrinus* en saliva.²⁹

Un estudio realizado por Aas et al, (2008), el cual indicaba que el 10% de sujetos con caries rampantes en dientes permanentes no tienen niveles detectables de *S. mutans*. El propósito de este estudio fue definir la bacteria predominante en la flora de la cavidad oral sana mediante la identificación y comparación de especies bacterianas cultivables y no cultivables ubicadas en diferentes tejidos blandos y placa supra y subgingival. Se analizaron los sitios de 5 sujetos clínicamente sanos, utilizaron secuencias de genes 16S rRNA de la muestra de ADN de 2589 clones, se detectaron 141 especies predominantes, de los cuales más del 60% no ha sido cultivada que representan seis filos de bacterias diferentes, especies como: *Streptococcus*, *Gemella*, *Eubacterium*, *Selenomonas*, *veillonellas*, *el Actinobacteria*. Y de las especies cultivables se encontraron: especies de *Actinomyces*, *Neisseria*, *Eikenella*, *Campylobacter*, *Porphyromonas*, *Prevotella*,

Fusobacterias. Es importante identificar especies cultivables y que aún no es cultivado la flora bacteriana en un entorno determinado antes de atribuir asociación con el estado de salud o enfermedad.

González et al (2013) describieron la prevalencia y severidad de caries dental en niños preescolares colombianos con dentición primaria. Se obtuvo una muestra aleatoria por grupos de 336 niños de entre 3 y 5 años de edad, examinados durante el año 2010. La detección de lesiones de caries se realizó por criterios visuales (ICDAS). Los Resultados de la prevalencia de caries fue del 88,9%, (51,4% para la experiencia y el 37,5% de las lesiones no cavitadas). El promedio ceo-d fue de 1,7 +/- 2,5. Las lesiones más comunes presentes fueron no cavitadas, siendo las superficies lisas en zona cervical los más afectados. Por la experiencia de caries hubo significación con una dieta cariogénica, cepillado de dientes supervisión de los padres y el uso de un alto contenido de fluoruro, mientras que la gravedad de la caries dental se asoció con consultas dentales por año, la enseñanza de la Madre y el comportamiento de la escuela. La prevalencia y severidad se asoció con diferentes factores de riesgo (consumo de dieta cariogénica semanal, supervisión del cepillado dental, uso alto contenido de fluoruro en dentífrico, visitar al dentista al año), se puede orientar por los padres a través de un cambio en el comportamiento.³⁰

Un estudio realizado por Chen et al (2015) comparó perfiles microbianos orales entre niños con ECC severa (SECC) y niños libres de caries. Se obtuvieron muestras de saliva y placa supragingival de niños con SECC (n = 20) y niños libres de caries (n = 20) de 3 a 4 años de edad. Las muestras fueron analizadas utilizando la identificación microbiana oral humana microarrays (HOMIM). Un total de 379 especies bacterianas fueron detectadas en muestras de placa supragingival en la saliva de todos los niños. Trece especies bacterianas mostraron diferencias significativas en prevalencia de placa supragingival entre la SECC y grupos libres de caries, mientras dos especies bacterianas mostraron diferencias significativas en la prevalencia de saliva. La frecuencia de detección de *Streptococcus mutans* fue

significativamente mayor en muestras del grupo de SECC que en los del grupo libres de caries; saliva ($p = 0,026$) y placa ($p = 0.006$).³¹

Correa et al (2015) realizaron un estudio cuyo objetivo fue evaluar la prevalencia de caries con el índice ICDAS (Sistema internacional de evaluación y detección de caries) utilizando diferentes puntos en niños de instituciones públicas y privadas, así como asociar la presencia de caries con los indicadores socioeconómicos, sexo, edad, tipo de programa de salud de la familia, de la escuela (urbana o rural), Se utilizaron diferentes puntos, de la siguiente manera: punto 1 (puntuaciones 0 y 1 se consideran como saludables y las puntuaciones de 2-6 clasificados como perdido); punto 2 (puntuaciones de 0 a 2 clasificados como sanos, las puntuaciones de 3 a 6 como cariado) y punto 3 (0-3 sano, 4 al 6 perdido). Los resultados para el punto 1 fue de 68,8%; punto 2 el 67,9% y el punto 3: 60,6%. Se encontró una asociación en la prevalencia de caries con la edad del niño ($p = 0,004$), zona escolar (urbana o rural) ($p = 0,004$). Como conclusión la prevalencia de caries en los niños en edad preescolar se considera alta. La presencia de lesiones de caries es más probable que ocurra en niños de cinco años de edad que viven en el campo.³²

Justificación

La caries es una enfermedad multifactorial que afecta a la mayor parte de la población mundial, está ligado a la presencia de microorganismos en la cavidad bucal. Se han identificado a los estreptococos del tipo mutans (*S.mutans* y *S. sobrinus*) como los principales agentes bacterianos en la caries, aunque existe evidencia de que otras poblaciones microbianas participan en el proceso de caries.

Existen diversos métodos para la identificación de *Streptococcus tipo mutans*, siendo los más comunes los que se basan en criterios morfológicos y bioquímicos, pero estos pueden dar falsos positivos, debido a una inadecuada fermentación o contaminación de los carbohidratos utilizados en estas pruebas. Sabemos que la biopelícula denominada placa dental está compuesta por más de 700 especies diferentes, la mayoría de las cuales tienen la capacidad de producir ácidos de los azúcares comúnmente encontrados en la dieta humana.

Se utilizarán los criterios del Sistema Internacional para la Detección y Evaluación de caries (ICDAS), este índice nos brinda una mejor calidad de diagnóstico, pronóstico y tratamiento clínico. Este sistema es exacto y reproducible, es muy útil en el diagnóstico y nos permite evaluar las etapas iniciales de la lesión de caries, así como evaluaciones a largo plazo.

Algunos estudios han demostrado una asociación entre el número y la concentración de *Streptococcus tipo mutans* en la placa y/o saliva y el estado de la caries en algunas poblaciones, de esta manera surge la necesidad de conocer la relación entre la experiencia de caries en niños de 3 a 5 años con respecto a ICDAS y la presencia de *Streptococcus mutans* en esta población, esta investigación permitirá definir la actividad de caries desde las lesiones iniciales en esmalte el cual permitirá actuar de forma oportuna y así limitar o revertir el daño en los dientes que ya han iniciado el proceso de caries y que no sería posible detectar con otros índices; de esta manera se podrán realizar protocolos de atención preventivos y pláticas dirigidas a los padres, una vez conociendo el tipo de riesgo cariogénico de cada niño.

Planteamiento del problema

La caries es la consecuencia de una interacción entre la microflora oral, la dieta y el medio ambiente. Las bacterias son cruciales para el inicio y progreso de las lesiones cariosas. La salud bucal de una población en relación con la caries dental puede ser evaluada a través de un grupo de indicadores fundamentales en los estudios odontológicos que se realizan para señalar la experiencia de caries tanto presente como pasada, toma en cuenta lesiones de caries dental y tratamientos previamente realizados. Con respecto a la experiencia de caries existen estudios donde corroboran la asociación entre la caries y la edad del niño y se puede explicar que debido a que a medida que aumenta la edad aumenta el tiempo de exposición de los dientes deciduos a los ácidos de la boca, lo cual va acompañado por el cambio de ingesta en la dieta con mayor consumo de carbohidratos, facilitando la labor del *S.mutans* al desarrollo de la caries dental. Por lo tanto surge la siguiente pregunta de investigación.

Pregunta de investigación

¿Existe asociación entre la experiencia de caries y la presencia de *Streptococcus del tipo mutans* en niños de 3 a 5 años que acuden a la clínica de estomatología pediátrica de la FEBUAP?

Objetivo General

Determinar la asociación entre la experiencia de caries y la presencia de *Streptococcus* del tipo *mutans* en niños de 3 a 5 años que acuden a la clínica de estomatología pediátrica de la FEBUAP.

Objetivos específicos

- 1.- Determinar la experiencia de caries utilizando los códigos ICDAS.
- 2.- Cuantificar las UFC de *Streptococcus* del tipo *mutans* en saliva por cultivo.
- 3.- Identificar UFC de *S. mutans* en placa supragingival por medio de la técnica PCR.

Hipótesis Científica

Hi La experiencia de caries se asocia con la presencia de *streptococcus* del tipo *mutans* en niños de 3 a 5 años que acuden a la clínica de estomatología pediátrica de la FEBUAP

Ho La experiencia de caries no se asocia con la presencia de *streptococcus* del tipo *mutans* en niños de 3 a 5 años que acuden a la clínica de estomatología pediátrica de la FEBUAP

Material y métodos

DISEÑO DEL ESTUDIO: analítico, prospectivo, transversal, observacional

UNIVERSO DE ESTUDIO: Pacientes de la clínica de Estomatología Pediátrica del Posgrado de la FEBUAP

TAMAÑO DE LA MUESTRA: No probabilístico por conveniencia

SUJETOS: Se reclutaran todos los niños que cumplan los criterios de selección que soliciten tratamiento.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

- 1.- Niños cuyos padres firmen el consentimiento informado.
- 2.- Niños sin compromiso médico.
- 3.- Niños sin tratamiento dental previo.
- 4.- Niños de cualquier género.
- 5.- Niños con dentición temporal.
- 6.- Niños de 36 a 60 meses de edad que acuden a la clínica de Estomatología pediátrica de la Maestría en Estomatología de la FEBUAP.

Criterios de exclusión

- 1.- Niños con cualquier síndrome.
- 2.- Niños con cualquier tipo de restauración dental.
- 3.- Niños que hayan ingerido medicamentos 15 días antes de la toma de la muestra.

Criterios de eliminación

- 1.- Presencia de alguna patología en el momento de la toma de muestras.

Variables

VARIABLES DEPENDIENTE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA	CATEGORIA	ANÁLISIS ESTADÍSTICO
Experiencia de Caries	Identificar índice de caries en cavidad oral de niños de 3 a 5 años.	Cualitativa ordinal	Escala 0-6	Tabla de contingencia, porcentaje.
VARIABLES INDEPENDIENTES				
Edad en meses	Identificar colonización oral por <i>S. tipo mutans</i> niños de 3 a 5 años de edad.	Cuantitativa discreta	Meses	Medidas de tendencia central y de dispersión.
Sexo	Identificar la colonización oral por <i>S. tipo mutans</i> en niños y niñas.	Cualitativa nominal dicotómica	masculino/femenino	Tabla de contingencia, porcentaje.
Presencia de <i>S. mutans</i>	Identificar la presencia de <i>S. mutans</i> en la cavidad oral de niños de 3 a 5 años de edad.	Cualitativa nominal dicotómica	Si/no	Tabla de contingencia, porcentaje. Xi cuadrada
Presencia de <i>S. sobrinus</i>	Identificar la presencia de <i>S. sobrinus</i> en la cavidad oral de niños de 3 a 5 años de edad.	Cualitativa nominal dicotómica	Si/no	Tabla de contingencia, porcentaje. Xi cuadrada
Cantidad de Streptococos del tipo mutans	Identificar las UFC de Streptococos del tipo mutans de la cavidad oral en niños de 3 a 5 años.	Cuantitativa numérica continua	UFC/ml	Medidas de tendencia central y de dispersión. Correlación de Píson

Recursos Humanos

Una investigadora alumna de la maestría en estomatología pediátrica, un asesor metodológico y un asesor disciplinario.

Recursos materiales

Instrumentos de oficina:

- Hojas blancas (historia clínica)
- Lapicero

Instrumentos de examen odontológico:

- Espejos del número 5
- Pinzas
- Explorador
- Cucharilla de dentina
- Guantes
- Cubrebocas
- Gasas
- Cepillo de profilaxis
- Pasta para profilaxis
- Tabletas reveladoras de placa (VIARDEN)
- Campos desechables
- Pieza de baja velocidad con contrángulo

Instrumentos en laboratorio:

- Medio BHV
- Agar mitis salivarius
- Placas 15x100
- Juegos de primers para *S. mutans* y *S. sobrinus*
- Kit Wizard® Genomic DNA Purification (Taq DNA polimerasa, dNTPs, regulador de reacción)

- Tubos Eppendorff de 1.5 ml
- Tubos para PCR
- Puntas para micropipetas

Recursos Financieros

Fueron proporcionados por parte de la secretaria de investigación y estudios de posgrado y por la investigadora.

Técnica de recolección de datos

Fuentes de información primaria:

Observación y encuesta

Fuentes de observación secundaria:

Historia clínica

Procedimiento

Se solicitó al tutor el consentimiento para incorporar al niño en el estudio, a cada paciente se le realizó la Historia Clínica, en el cual se informó al padre o tutor de los objetivos del estudio y firmaron la hoja de consentimiento informado.

Se tomó muestra de placa dentobacteriana de la superficie vestibular del segundo molar superior derecho con cucharilla de dentina y se tomó muestra de saliva total. Posteriormente se realizó una tinción en los dientes con una tableta reveladora (VIARDEN) para posteriormente realizar el índice de placa dentobacteriana de O'Leary.

Una vez teñidos los dientes se realizó la limpieza mecánica dental con un cepillo e instrumento rotatorio de baja velocidad con luz fría de la unidad dental y con la ayuda del espejo dental se examinó la cavidad bucal. Con Previa estandarización intra e inter observador por un experto en ICDAS: se llenó el formato diseñado para este estudio donde se señaló los procesos cariosos de acuerdo al Sistema Internacional de Detección y Evaluación de Caries (ICDAS).

Toma de muestra de saliva

Con un tubo de ensayo se tomaron las muestras de aproximadamente 500 μ l de saliva no estimulada, la cual se vertió en un tubo eppendorff de 1.5ml para su cultivo.

Fig.1 Las muestras se transportaron al laboratorio de Microbiología Oral de la FEBUAP en un recipiente tipo nevera a una temperatura entre 4 a 10 °C en un lapso de tiempo no mayor a 4 horas para su procesamiento. (Figura 2. A y B).



Figura 1. Toma muestra de saliva



A



B

Figura 2. A, muestra en tubo eppendorff con medio de transporte solución salina isotónica. B, muestras colocada en recipiente tipo nevera.

Una vez que se empezó a realizar el proceso de las muestras, se realizaron diluciones seriadas 1:10, 1:100, 1:1000 a partir de 100 μ l de saliva que se colocaron en 900 μ l de solución salina isotónica (1:10), de esta se toman 100 μ l y se colocan en 900 μ l en SSI (solución salina isotónica) (1:100), de la misma forma se realizó el procedimiento para obtener una dilución de 1:1000. Figura 3. De cada una de las diluciones se sembraron 10 μ l en Agar Mitis Salivarius, figura 4; se dejaron secar y se incubaron a 37°C al 5% de CO₂ por 48 h. Después de este tiempo, se retiraron las placas de la incubadora se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC) por cada una de las diluciones sembradas, las cuentas se extrapolaran a UFC por mililitro. Figura 5 (A y B).



Figura 3. Diluciones seriadas



Figura 4. Siembra de las diluciones



A



B

Figura 5. A, muestras colocadas en la incubadora. B, cuantificación de las UFC

Identificación de *S. mutans* y *S. sobrinus* a partir de placa dentobacteriana mediante la técnica PCR

Toma de Muestra de Placa

Con cucharilla de dentina se tomaron la muestra de placa dentobacteriana supragingival de la cara vestibular del segundo molar superior derecho, posteriormente se colocó la placa recolectada en un tubo eppendorff con solución salina isotónica agitándola durante 10 seg. Figura 6 (A y B). Se llevó al laboratorio para su extracción de DNA y análisis de *S.mutans* y *S. sobrinus*.



A



B

Figura 6. A, Toma de muestra de placa. B, muestra recolectada en tubo eppendorff.

Extracción de DNA

Se obtuvieron treinta y un muestras de placa dentobacteriana de niños de 3 a 5 años que acudieron a la clínica de estomatología pediátrica de la FEBUAP, previamente se les realizó una historia clínica y se firmó un consentimiento informado por parte del padre o tutor, una vez que las muestras estaban en tubos eppendorff con 900 μ l solución salina isotónica se llevó al laboratorio de microbiología de la FEBUAP para proceder a su extracción de DNA. Se tomaron 200 μ l para la extracción de DNA empleando el kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega), de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Figura 7.



A



B

Figura 7. A, Kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega). B, extracción de DNA

Para obtener la extracción de DNA de las muestras de placa dentobacteriana se utilizó el Kit Genomic DNA Purification Wizard®. Se centrifugo la placa dentobacteriana por 15 minutos a 12.000 rpm, al término se retiró el sobrenadante y se solubilizo en 300µl de PBS, se adicono 120µl de lisozima y se incubo a 37°C por 30 minutos, una vez transcurrido el tiempo se centrifugo por 2 minutos a 12.000 rpm y se procedió a retirar el sobrenadante. Posteriormente se adicono 600µl de solución lisis de nucleico incluida en el Kit Wizard®, se mezcla generosamente, una vez mezclado se mete a incubar por 5 minutos a 80°C, se deja enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente se adiconan 3µl de solución RNase incluido en el kit Wizard®, se mezcla y se mete a incubar a 37°C por 15 minutos después se deja enfriar a temperatura ambiente.



A



B

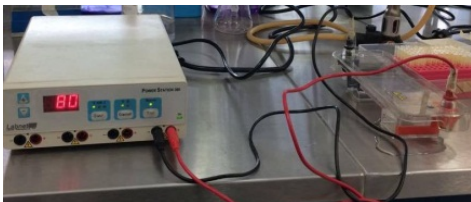


C

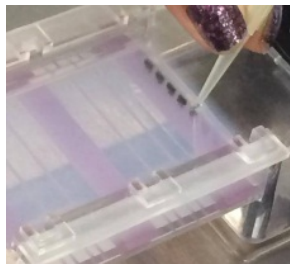
Figura 8. A, centrifugación del DNA. B, extracción del DNA. C. incubación del DNA.

Para precipitación y la rehidratación del DNA se transfiere el sobrenadante a un tubo eppendorff limpio que contenga 600µl de isopropanol a temperatura ambiente y se mezcló. La rehidratación de DNA se colocó 100 µl de solución de rehidratación que se incluye en el Kit Wizard® por 1 hora a 65°C.

La integridad del DNA de las muestras de placa dentobacteriana se verificó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1% separados a 80V, se tiño con bromuro de etidio (0.5 mg/ml) y se observó en un transiluminador de luz UV. La cuantificación de DNA se realizó en un espectrofotómetro Nano Photometer™ Pearl a una longitud de onda de 260nm. La pureza del DNA se determinó estableciendo la relación absorbancia 260/280 nm entre un rango de 1.8-2.0nm. Figura 9. (A, B y C).



A



B



C

Figura 9. A, electroforesis. B, gel de agarosa. C, tinción con bromuro de etidio

Identificación de *S. mutans* y *S. sobrinus* mediante PCR.

Se empleó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la identificación de *S. mutans* y *S. sobrinus* se utilizaron los iniciadores SmF5 y SmR4 para *S. mutans* y los iniciadores SsF3 y SsR1 para *S. sobrinus* (tabla 1) de acuerdo a lo publicado por Yano et al, para ello se preparó una mezcla de reacción a un volumen final de 50 µl conteniendo: 25µl de un amortiguador PCR Master Mix (2X) Thermo Scientific (0.05 U/µl Taq DNA polymerase, 4Mm de MgCl₂, 0.4mM de cada dNTP, 0.6µM de cada iniciador y 5µl de ADN.

La mezcla de reacción se incubó durante 5 minutos a 95°C, seguido por 40 ciclos de 1 minuto a 95°C para la desnaturalización, el tiempo y temperatura de

alineamiento varió para cada par de primer de acuerdo a la especie a determinar (Tabla 1) y 1 minuto a 72°C para la extensión, la elongación final fue 5 minutos a 70°C.

Los fragmentos de DNA amplificados fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% y separados a 80 V, para determinar el peso molecular se utilizó 1 mg/ml de marcador de peso molecular Hyper Ladder™ IV (BIOLINE). El DNA fue teñido con bromuro de etidio, se observó y fotografió en un foto documentador BIO-RAD Molecular Imagen® (ChemicDoc™ XRS+), se analizó con el software ImageLabTH.

Tabla No.1 iniciadores especie – específicos de *Streptococcus mutans*.

INICIADORES	ESPECIE	SECUENCIA 5' A 3'	T_m^a (°C)	Tamaño del fragmento (pb)
SmF5	<i>S. mutans</i>	AGC CAT GCG CAA TCA ACA GGT	69	415
SmR4	<i>S. mutans</i>	CGC AAC GCG AAC ATC TTG ATC AG	70	
SsF3	<i>S. sobrinus</i>	GAA ACC AAC CCA ACT TTA GCT TTG AT	69	329
SsR1	<i>S. sobrinus</i>	ATG GAG TGA TTT TCC ATC GGT ACT TG	69	

Tomado y modificado de: Yano A. et al 2002, FEMS Microbiology Letters.

Aspectos éticos

La siguiente investigación se realizara en base a los lineamientos del comité de investigación de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla respetando los conceptos éticos de la Ley General de Salud en los principios éticos de Helsinki y Tokio en los cuales se antepone el respeto a la integridad física, moral y mental de los pacientes.

Alcances y limitaciones

El presente estudio pretende determinar la asociación entre la experiencia de caries y la presencia de *Streptococcus* del tipo *mutans* en niños de 3 a 5 años que acuden a la clínica de estomatología pediátrica de la FEBUAP, con el fin de determinar la cantidad de *streptococcus* del tipo *mutans* desde las lesiones iniciales de caries hasta las más avanzadas y posteriormente realizar un plan de tratamiento para los pacientes.

La principal limitación es que es un estudio transversal y se pretende tener continuidad en este grupo de estudio y así conocer los resultados a largo plazo, de esta manera poder implementar mejores tratamientos preventivos para la salud bucal del grupo de este estudio.

Análisis estadístico

Se realizó con el paquete estadístico SPSS V.22, estadística descriptiva para las variables independientes edad y sexo, y Chi cuadrada para la asociación de experiencia de caries vs estreptococos del tipo mutans.

Resultados

De los 31 pacientes incluidos en el estudio se contó con 12 mujeres (38.7%) y 19 hombres (61.3%), con un promedio de edad de 45.7 ± 9.6 meses (Gráfica 1) y una prevalencia de caries determinada por ICDAS del 93.5% (Tabla 1).

Gráfica 1 Distribución por sexos

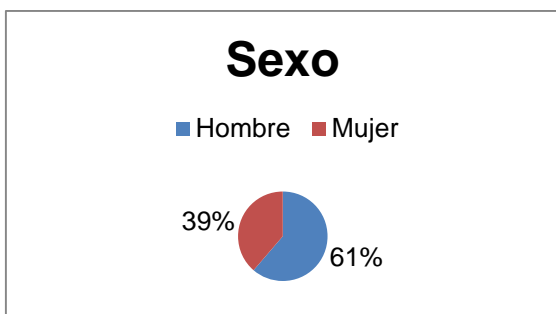


Tabla 1. Tabla de prevalencia de caries

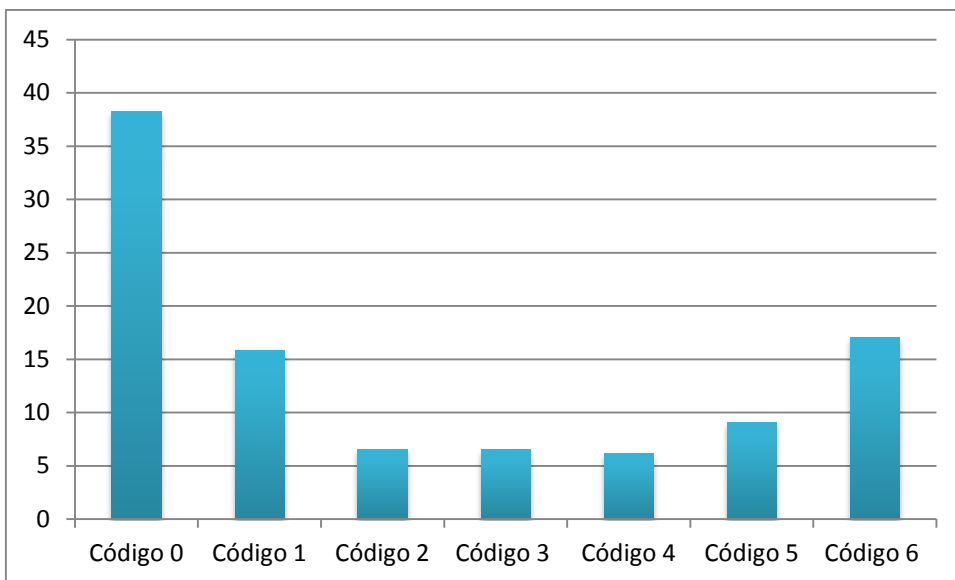
Caries	Frecuencia	Porcentaje
Si	29	93.5
No	2	6.5

El análisis de los 31 niños represento la evaluación de 612 dientes de los cuales el 38.4% presentaron índice ICDAS de 0, seguido por el 17.1% y 15.8% por los valores de 6 y 1 de ICDAS respectivamente (tabla 2), los dos niños que se encontraron libres de caries de la totalidad de sus dientes presentaron índice de 0. Los demás niños muestran combinaciones diferentes entre los índices ICDAS de cada diente, observamos que el código 6 se presenta en la mayoría de los incisivos superiores presentando un riesgo de caries alto dentro de nuestra población.

Tabla 2. Porcentajes de los códigos ICDAS de los 31 niños evaluados

Código ICDAS	Número de dientes	Porcentaje
0	235	38.4%
1	97	15.8%
2	41	6.7%
3	40	6.5%
4	38	6.2%
5	56	9.1%
6	105	17.1%
Total	612	100%

Gráfica 2. Porcentaje de los códigos ICDAS de acuerdo a la población de estudio



El índice de O'leary se observó que 2 (6.5%) presentaron buena higiene sin referencia por ICDAS a presencia de cavidades (códigos 0 y 2), 15 (48.8%) presento higiene regular con códigos de ICDAS entre 2 y 3, sin embargo, uno de los 15 niños incluidos en este grupo no presento caries, el resto de la población, 14 niños (45.2%) presentaron higiene deficiente con códigos de ICDAS entre 2 y 6 (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia y porcentaje de la población de estudio de acuerdo al índice de O'leary y la relación con los códigos de ICDAS

Higiene Oral O'leary	Frecuencia	Porcentaje	Código ICDAS
Buena (0-15%)	2	6.5	0 a 1
Regular (16-30%)	15	48.4	2 al 3
Deficiente (más del 30%)	14	45.2	2 a más de 3
Total	31	100.0	

El conteo de *S. mutans* (UFC/ml) en las muestras de saliva encontramos un promedio de 1.6×10^7 UFC/ml, de acuerdo a los estándares de evaluación de riesgo a caries 32.3% se localizó con riesgo medio a caries con conteos de *S. mutans* entre 10^5 y 10^6 UFC/ml, el restante 67% presentaron riesgo alto determinándose conteos mayores a 10^6 UFC/ml (Tabla 4). Un niño de nuestra población ubicado en el código 0 de ICDAS presentó conteos mayores de 10^7 UFC/ml de *S. mutans* y O'leary de 2.

Tabla 4. Nivel de riesgo cariogénico de acuerdo a UFC/ml de *Streptococcus mutans*

	Frecuencia	Porcentaje
No riesgo (No. de UFC/ml de <i>S. mutans</i>)	0	0
Riesgo bajo (menor 10⁴)	0	0
Riesgo medio (entre 10⁵ y 10⁶)	10	32.3
Riesgo alto (mayor 10⁶)	21	67.7
total	31	100

El análisis por PCR especie-específico (figura 1) de las 31 muestras de placa, se encontró que el 87% (28 muestras) la presencia de *S. mutans*, mientras que el 29.03% (9 muestras) fueron positivas para *S. sobrinus*. En 22 (71%) muestras solo se identificó *S. mutans*, en 3 (9%) únicamente *S. sobrinus* y en 6 muestras (19.4%) se encontró ambas especies bacterianas asociadas (tabla 5). Dos niños que presentaron ambas bacterias tenían índice de ICDAS con códigos de 5 y 6 con una higiene deficiente, sin embargo, el tercer niño presentó ICDAS de 0 y una higiene regular.

Confirmación por PCR especie específico

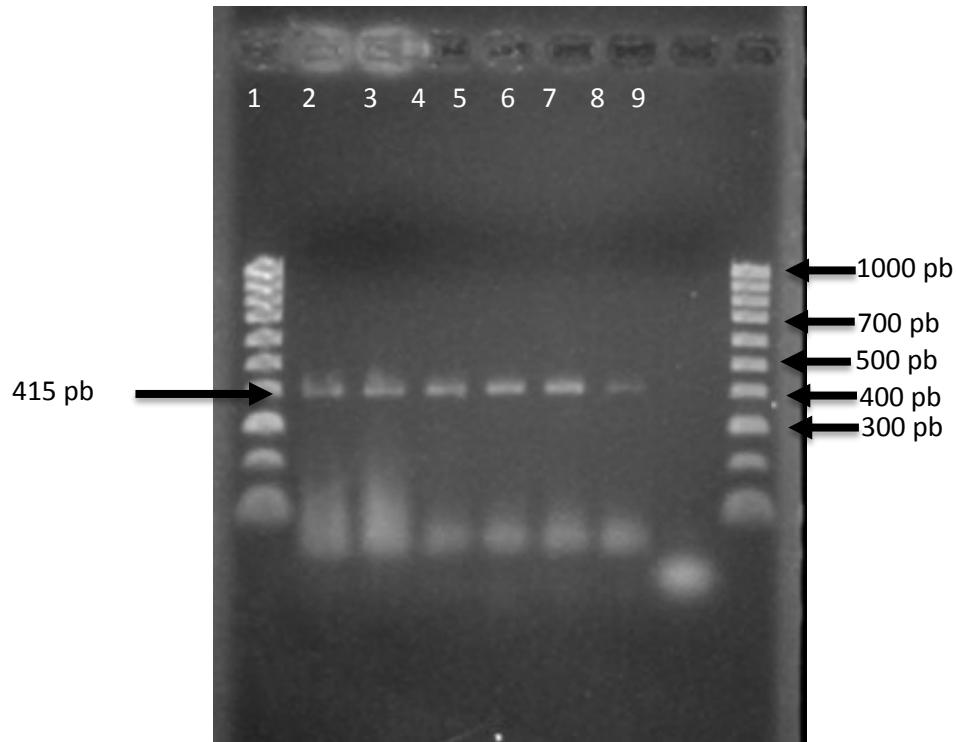


Figura 1. Gel de agarosa al 2.0 % donde se muestran los resultados de la PCR especie específico mostrando un amplificado de 415 pb para la identificación de *Streptococcus mutans*, Líneas 1 y 9: Marcador 100 pb HyperLadder™ IV, Línea 2: Control positivo a *S. mutans* ATCC 59393. Líneas 3, 4, 5, 6 y 7: muestras de saliva positivas a *S. mutans*. Línea 8 control negativo.

Tabla 5. Identificación de estreptococos del tipo mutans por PCR especie-específico en muestras de placa dentobacteriana.

Paciente	<i>S. mutans</i>	<i>S. sobrinus</i>
P 1	+	+
P 2	+	-
P 3	+	-
P 4	+	-
P 5	+	+
P 6	+	-

P 7	+	-
P 8	+	-
P 9	+	-
P 10	+	-
P 11	+	-
P 12	+	-
P 13	-	+
P 14	+	-
P 15	+	+
P 16	+	-
P 17	+	-
P 18	+	-
P 19	+	+
P 20	+	-
P 21	-	+
P 22	+	-
P 23	+	+
P 24	+	-
P 25	+	-
P 26	+	-
P 27	+	-
P 28	+	-
P 29	-	+
P 30	+	-
P 31	+	-

Para asociar la experiencia de caries con riesgo cariogénico, se realizaron pruebas bivariadas de chi-cuadrada, donde se presentaron diferencias estadísticamente significativas con un valor de $p=0.000$, con un Odds ratio de 0.200 y un intervalo de confianza del 95% de 0.073 valor mínimo y 0.550 valor máximo, por lo que se rechaza la hipótesis nula esto quiere decir que entre mayor experiencia de caries mayor presencia de estreptococos del tipo mutans. (Tabla 6).

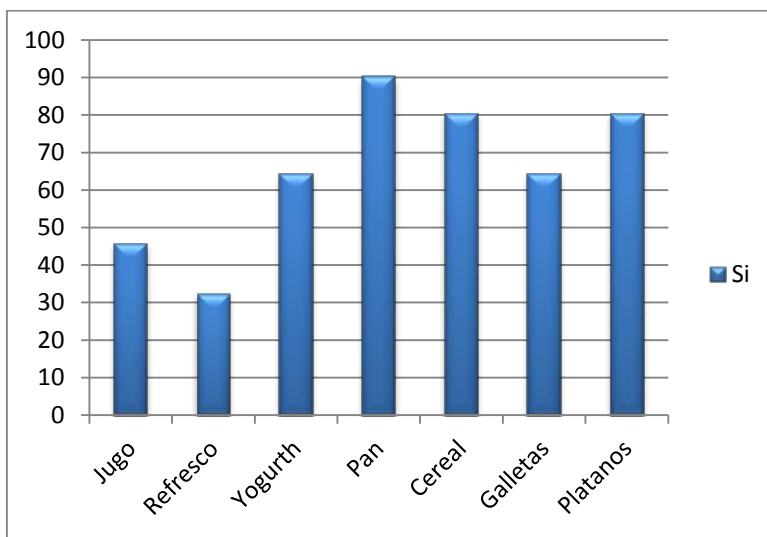
Tabla 6. Asociación de riesgo cariogénico y severidad de caries

		Severidad de caries		Total
		Positivo	Negativo	
Riesgo Criogénico	Con riesgo	12	3	15
	Sin riesgo	0	16	16
Total		12	19	31

Chi-cuadrada	Valor p
20.884	.000

De acuerdo a los resultados de la encuesta realizada a los padres de los pacientes que participaron en este estudio, se determinó que los alimentos que consumieron con mayor frecuencia fueron jugo (54.8%), yogurth (64.5%), pan (90.3%), cereal (80.6%), galletas (64.5%), plátanos (80.6%); siendo el de menor consumo el refresco (32.3%), sin embargo, observamos que los alimentos que presentan mayor ingesta, pan, galletas y plátanos, son alimentos que favorecen el desarrollo y evolución de caries (Gráfica 3).

Gráfica 3. Porcentaje del consumo de alimentos



Se determinó la asociación de los alimentos consumidos así como el riesgo que presenta cada uno con la presencia de caries por medio de la prueba chi-cuadrada, con un intervalo de confianza con un 95%, encontrando que no existe asociación y no representan un factor de riesgo. (Tabla 7).

Tabla 7. Cuadro de asociación de variables y la presencia de caries

Variable	Xi cuadrada	Valor de p= 0.05	I.C. 95%		
			Odds Ratio	Valor mínimo	Valor máximo
Jugo	.097	.756	1.260	.293	5.419
Refresco	.472	.492	.571	.115	2.845
Yogurth	.040	.842	1.167	.255	5.333
Pan	.040	.841	1.294	.104	16.043
Cereal	.400	.527	.563	.093	3.391
Galletas	2.182	.332	2.182	.444	10.728
Plátanos	.091	.763	1.333	.204	8.708

Discusión

La caries dental es una de las enfermedades más infecciosa en humanos, siendo una de las más prevalentes a nivel mundial³³, cuyo origen es multifactorial debido a la interacción de tres factores principales: hospedero, microflora oral y el sustrato los cuales interaccionan de forma continua determinado por un cuarto factor que es el tiempo³⁴, otros autores como Fejerskov adiciona otros factores, llamados moduladores (costumbres, nivel socioeconómico, educación, medio ambiente, etc.), los cuales contribuyen e influyen decisivamente en el surgimiento y evolución de las lesiones cariosas.³⁵ Se han utilizado a lo largo del tiempo varios índices para el diagnóstico de caries, sin embargo en el 2002 un grupo de investigadores se reunieron con el objetivo de crear un índice internacional, denominado Sistema Internacional de Detección y Evaluación de caries (ICDAS) el cual es uno de los principales índices que puede ser utilizado en encuestas epidemiológicas, ya que permite flexibilidad en el uso de diferentes puntos de corte y ayuda a estudiar a la caries según la etapa de evolución de la enfermedad, este sistema es un conjunto de criterios que se caracteriza por diagnosticar las lesiones iniciales de la enfermedad³⁶; por ello decidimos utilizarlo en nuestro estudio.

Guedes y cols. (2011), evaluaron la experiencia a caries de 835 niños de 6 a 7 años de edad de zonas sub urbanas de Brasil, esta evaluación la realizaron por medio de ICDAS II, ellos encontraron una prevalencia de caries del 95.6% en dientes temporales y 63.7% en dientes permanentes³⁷, siendo similar a nuestro estudio con un 93.5% en dientes temporales considerándose extremadamente alta. Ellos observaron que los códigos de ICDAS 1, 2 y 3 (caries de esmalte) se presentaron en un 94.5% de la muestras y los códigos 4, 5 y 6 (caries de dentina) en un 67.2% en dentición temporal⁴, mientras que en nuestro estudio los códigos 1, 2 y 3 presentan un 29% y los códigos 4, 5 y 6 muestran un 32.5% mostrando porcentajes inferiores en cada grupo de códigos, esto probablemente se debe a que la cantidad de pacientes de nuestra población de estudio fue menor.

La nomenclatura más reciente que se le da a la caries en edades tempranas es la caries de la infancia temprana (CIT), afectando a los dientes anteriores

principalmente; en un estudio realizado por Ramírez y cols. (2008); determinaron la experiencia de caries en un grupo de 659 niños de 1 a 5 años por medio de los códigos ICDAS, ellos determinaron que el 69.7% presentó experiencia de caries; el análisis, de acuerdo a la presencia de lesiones no cavitadas (códigos 1 y 2), fue del 60.1% mientras que los códigos 3, 4, 5 y 6 representaron el 42.6%³⁸, al hacer la comparación con nuestros resultados observamos una experiencia de caries mayor de 93.5% por lo cual sus datos no concuerdan con los nuestros al igual que en lo correspondiente a los códigos 1 y 2 que en nuestra población fue del 22.5%, no así para los datos de los códigos 3, 4, 5 y 6 que fueron del 38.9% muy similares a los suyos. Estas diferencias de resultados puede deberse a que el tamaño de las muestras analizadas es diferente. Cabe mencionar que las lesiones cavitadas que se encontraron en un mayor porcentaje siguen avanzando si no se establecen medidas necesarias para detener el progreso de la lesión, por eso es importante buscar estrategias que permitan reorientar los modelos de atención para diagnosticar las lesiones en sus etapas iniciales.

En el estudio de González y cols., se presenta una prevalencia de caries con un porcentaje del 88.9% con un promedio de edad de 3.8 años, al igual que en nuestro estudio, sin embargo la prevalencia de nuestro estudio fue del 93.5% siendo ligeramente más alta que el estudio anterior, estos autores al igual que nosotros, determinó la experiencia de caries por medio de los códigos ICDAS, en el cual ellos encontraron el código 3 como el más prevalente con un 51.4%³⁹ mientras que en nuestro estudio se observa el código 0 fue el más prevalente con un porcentaje del 38.4%, seguidos de los códigos 1 y 6 lo que representaron el 15.8% y 17.1% respectivamente.

Una de las etapas más importantes para que se produzca la caries es la adhesión de la bacteria a la superficie del diente, asociadas al inicio, progresión y evolución de la lesión, uno de los más importantes son los estreptococos del tipo mutans⁴⁰.

En nuestro estudio mediante la saliva sin estimular se realizó la cuantificación de UFC de *Streptococcus mutans*, en la cual observamos un nivel de riesgo de caries alto con un porcentaje del 67.7%, mientras que el nivel de riesgo medio con un

porcentaje del 32.3% y no hubo presencia de niños que presentaran bajo riesgo. Sin embargo es mayor a la observada en los resultados del estudio de Salazar y cols. (2008), en el cual se tomó, la muestra de saliva de 51 escolares de entre 5 y 17 años de edad se determinó mediante la clasificación de Linossier que presentan un riesgo alto de 41.2%, riesgo medio de 17.6% y un bajo riesgo del 41.2%⁴¹.

Skrivele y cols. (2013), realizaron la evaluación del riesgo a caries mediante el conteo de *S. mutans* en la saliva de 472 niños de 26 a 34 meses de edad de diferentes países: Alemania, Latvia y Brasil; ellos observaron que los conteos mayores de 100,000 UFC/ml fueron estimados en 22.5% en Alemania, 19.3% en Brasil y 15.7% en Latvia, mientras que los conteos menores de 100,000 UFC fueron de 77.5% en Alemania, 80.7% en Brasil y 84.3% en Latvia⁴², comparándolos con nuestros resultados podemos observar que aunque la población de ellos es mayor que la de nuestro estudio, presentan menores conteos de *S. mutans* que los niños incluidos en nuestro estudio, los cuales están en un riesgo cariogénico alto al determinar que el 67.7% de nuestra población tiene valores por arriba de 10^6 UFC/ml y el 32.3% entre 10^5 y 10^6 UFC/ml de *S. mutans* pertenecientes a un riesgo medio. Estas diferencias pueden deberse a el método de conteo de colonias de *S. mutans* ya que ellos utilizan el método semicuantitativo de comparación de densidad bacteriana por CRT[®] bacteria (Ivoclar Vivadent) y nosotros un método de cuantificación más exacto por conteo en placa de colonias de *S. mutans*, además nuestro conteo se realizó por triplicado y el de ellos es en una sola placa de cultivo de CRT bacteria.

El *S. mutans* es considerado como la principal bacteria cariogénica para la iniciación de la caries, mientras que *S. sobrinus* está implicada en su progresión y desarrollo; la presencia de ambas especies muestra mayor experiencia de caries⁴³. La identificación de *S. mutans* se ha realizado mediante métodos convencionales de cultivo, sin embargo las técnicas moleculares los han ido reemplazando poco a poco debido a su mayor rapidez y especificidad⁴⁴. En un estudio de Franco y cols. (2007), en el cual analizaron muestras de placa dentobacteriana, determinaron la presencia de *S. mutans* y *S. sobrinus* por PCR, ellos identificaron a *S. mutans* en 85.7% y *S.*

sobrinus en 14.3%; sin embargo no se obtuvieron datos de la presencia de ambas bacterias asociadas de la población analizada⁴⁵. Nuestro estudio, al igual que el de ellos, se realizó en muestras de placa dentobacteriana encontrando valores muy similares en relación a *S. mutans* y *S. sobrinus*; sin embargo, ellos no encuentran a ambas bacterias asociadas en una misma muestra mientras que nosotros lo encontramos en 19.4%.

Varios son los estudios realizados para comparar la presencia de estreptococos de tipo mutans en muestras de placa de población infantil por técnicas bioquímicas y moleculares como es el PCR, entre ellos Okada y cols. (2002) en Japón y Carmona y cols. (2011) en Colombia, determinaron la presencia de estreptococos del tipo mutans en muestras de placa dental provenientes de niños de 3 a 5 años de edad, encontrando que *S. mutans* se detectó en 72.8% y *S. sobrinus* en 61.1% en la población japonesa⁴⁶ y en la colombiana determinaron a *S. mutans* en 76% y *S. sobrinus* en 81.9%⁴⁷, ambas poblaciones presentan valores altos de ambas bacterias en comparación de nuestros resultados en los cuales la determinación de *S. mutans* (87%) valores similares al de ellos; la mayor presencia de *S. mutans* puede deberse posiblemente al mayor acumulo de placa dentobacteriana a esta edad debido a que no son autónomos en realizar una correcta higiene oral, en nuestro estudio encontramos que el 94.5% de nuestra población presenta un índice de O'leary entre regular y deficiente lo cual implica un acumulo de placa dentobacteriana que condiciona a la aparición, desarrollo y evolución de caries, además que nuestra población refiere consumo frecuente de alimentos azucarados, datos que no incluyen los estudios de Okada y el de Carmona. Está demostrado que la ingesta de alimentos con azúcar refinada favorece la aglutinación de cepas de *S. mutans* y otras bacterias por la formación de glucanos (mutanos y dextranos) que ayudan a la adhesión microbiana así como sirven de polímeros de reserva para producir ácido permitiendo que el pH bajo se mantenga por mayor tiempo y, como consecuencia, se desarrolle el proceso de caries⁴⁸. En lo referente a las cepas de *S. sobrinus* los tres estudios presentan valores diferentes, en la población japonesa se encontró en 61.1%⁴⁹, en la colombiana de 81.9%⁵⁰ y en nuestra población fue más baja con una proporción de 29.03% de la población, esto podría deberse al

origen étnico, tipo y frecuencia de alimentación y a la edad de los niños, se sabe que la edad de la primera colonización de *S. mutans* es entre 49 y 75 meses, mientras que para *S. sobrinus* es entre 49 y 81 meses, dado que nos permite confirmar que la colonización de *S. mutans* es menor en edades de 3 años mientras que a los 5 años la colonización de *S. sobrinus* es más latente⁵¹; por otro lado varios estudios hacen referencia a la habilidad que presentan algunas cepas de *S. mutans* de producir bacteriocinas llamadas mutacinas, las cuales inhiben el crecimiento de bacterias relacionadas genética y ambientalmente, entre ellas cepas menos virulentas de *S. mutans* y *S. sobrinus*⁵², esto puede ser la explicación en la disparidad de las determinaciones de *S. sobrinus* en las tres poblaciones, ya que las cepas que producen este tipo de bacteriocinas están relacionadas con bacterias que están presentes en placa de individuos con lesiones cariosas, sin embargo no todas las cepas de *S. mutans* secretan bacteriocinas, pudiendo también explicar la variación en los porcentajes de ambas bacterias (*S. mutans* y *S. sobrinus*) encontradas en la misma muestra de placa dentobacteriana de las tres poblaciones, observando que los japoneses los encuentran en 48.1%, en los colombianos de 77.8% y nosotros en un 19.4%.

Conclusión

El análisis ICDAS de los niños presento mayor prevalencia en el código cero, seguidos del código 1 y 6 encontrándose principalmente en los dientes anteriores.

El conteo de UFC de estreptococos del tipo mutans se encontraron en niveles entre 10^5 y 10^6 UFC/ml representando un riesgo medio a caries.

Los niños con cuentas altas de estreptococos mutans y presencia de código ICDAS 6 están relacionados con un índice de O'leary deficiente.

Todos los niños presentaron estreptococos del tipo mutans en las muestras de placa.

La principal especie identificada por PCR en la población fue *S. mutans*, se comprueba la relación entre el historial de caries y la presencia de estreptococos del tipo mutans.

Alcances de este estudio

Se deben realizar protocolos de atención donde el principal el objetivo sea evaluar el riesgo de caries de los niños mediante las metodologías utilizadas en este estudio (ICDAS y PCR), e implementar alternativas de prevención y control; así como realizar pláticas educativas a los padres acerca de la salud oral y todos los factores implicados en la caries.

Bibliografía

- ¹ Ojeda J, García E. *Streptococcus mutans* and dental caries. *Revista CES*. 2013; 26(1):44-56.
- ² Perea E. La flora de la boca en la era de la biología molecular. *Oral Pat Oral Cirugía Bucal*. 2004; 9(1):1-10.
- ³ Núñez P, García B. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2010;9(2) 156-166.
- ⁴ Castellanos J, Marín L. La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. *Univ Odontol*. 2013; 32(69): 49-59.
- ⁵ Daniel P, García B. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2010;9(2):156-166.
- ⁶ Bello S, Fernández L. Tratamiento restaurador atraumático como una herramienta de la odontología simplificada. Revisión bibliográfica. *Acta odontol. venez.* 2008; 46(4):567- 72.
- ⁷ Walsh J. Aspectos clínicos de biología salival para el clínico dental. *J Minim Interv Dent* 2008; 1 (1):5-20.
- ⁸ Núñez P, García B. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2010;9(2) 156-166.
- ⁹ Estrada J, Pérez J, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Rev. Cub. Estomatología*. 2006; 43(1).
- ¹⁰ Núñez P, García B. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2010;9(2) 156-166.
- ¹¹ Escobar F: Prevención en Odontología Pediátrica. En: *Odontología Pediátrica*, 1^o Edición. Santiago de Chile. Editorial Universitaria, 1991: 101-36.
- ¹² Mc Donald R, Avery DR: Caries dental en los niños y los adolescentes. En: *Odontología pediátrica y del adolescente*. Sexta Edición en Español. España. Editorial Mosby/Doyma, 1995: 209-43.
- ¹³ Palomer R Leonor. Caries dental en el niño: Una enfermedad contagiosa. *Rev. chil. pediatr.* [revista en la Internet]. 2006 Feb [citado 2015 Jun 03]; 77(1): 56-60.
- ¹⁴ Axelsson. *Diagnosis and Risk prediction of dental caries*. 2ed. Alemania: Quintessence; 2000.
- ¹⁵ Yamashita Y, Shimazaki Y. Simple and rapid detection of *Streptococcus mutans* and Japan *Streptococcus sobrinus* in human saliva by polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol* 2000;15: 258–262.
- ¹⁶ Marsh P. Dental plaque as a biofilm and a microbial community implications for health and disease. *BMC Oral Health*. 2006; 6(1):S14.
- ¹⁷ Newbrun E. *Cariología*. 2ed. México; Uthea Noriega Ed:1994.
- ¹⁸ Ekstrand KR, Zero DT, Martignon S, et al. Lesion activity assessment. *Monogr Oral Sci* 2009; 21:63–90.
- ¹⁹ American Academy of Pediatric Dentistry (AAPD). *Oral Health Policies and Clinical guidelines*. *Pediatric Dentistry* 2003; 25 (Suppl. 7).
- ²⁰ González F, Carmona L. Dental caries prevalence with ICDAS criteria and associated factors in Colombian children with primary dentition. *Revista Colombiana de Investigación en Odontología* 2013; 4 (11): 130 – 141.

-
- ²¹ Shivakumar K, Sumanth, Chandú G. International Caries Detection and Assessment System: A new paradigm in detection of dental caries.
- ²² Shivakumar K, Sumanth, Chandú G. International Caries Detection and Assessment System: A new paradigm in detection of dental caries.
- ²³ Mccann D. Herramientas visuales innovadoras y alta tecnología para detectar la caries de forma temprana. *Dental Practice Report*. 2006: 1923.
- ²⁴ Shivakumar K, Sumanth, Chandú G. International Caries Detection and Assessment System: A new paradigm in detection of dental caries.
- ²⁵ Aguilera G, Estrada I. Detección de una secuencia del gene spaP de *Streptococcus mutans* en muestras de placa dental mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) / Detection of a sequence of the spaP gen from *Streptococcus mutans* in dental plaque samples by means of polimerase chain reaction (PCR). *Rev. ADM*. 2003; 60(5):180-184.
- ²⁶ Aas A, Paster B. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity 2005; 43(11):5721-5732.
- ²⁷ Corby PM, Lyons-Weiler J, Bretz WA, Hart TC, Aas JA, Boumenna T, Goss J, Corby AL, Junior HM, Weyant RJ, Paster BJ. Microbial Risk Indicators of Early Childhood Caries. *J Clin Microbiol* 2005, 43(11): 5753-5759.
- ²⁸ Franco E. Amoroso P. Detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Dental Plaque Samples from Brazilian Preschool Children by Polymerase Chain Reaction. *Braz Dent J* 2007; 18(4):329-333.
- ²⁹ Salazar, I. A.; Vásquez, c.; almuna, a.; oporto, g.; santana, r.; herrera, c. L. & sanhueza, a. Detección molecular de estreptococos cariogénicos en saliva. *Int. J. Morphol.*, 26(4):951-958, 2008.
- ³⁰ Gonzalez M F, Carmona A L, Puello del R E. Dental caries prevalence with ICDAS criteria and associated factors in Colombian children with primary dentition. *Rev Colombiana de Investigación Odontológica* 2013; 4(11):130-141.
- ³¹ Chen M, Feng C. Comparison of Oral Microbial Profiles between Children with Severe Early Childhood Caries and Caries-Free Children Using the Human Oral Microbe Identification Microarray. *Plos One*. 2015; 10(3): 1-12.
- ³² Correa V, Piovesan C, Pettorosi JC. Prevalence of Dental Caries in Preschool Children by ICDAS Diagnostic Methodology. *Brazilian Research in Pediatric Dent* 2015;15(1):291-300.
- ³³ Salazar, I. A.; Vásquez, C.; Santana, R.; Herrera, c. L. & Sanhueza, a. Detección molecular de estreptococos cariogénicos en saliva. *Int. J. Morphol.*, 26(4):951-958, 2008.
- ³⁴ Escobar F. Prevención odontología pediátrica. En: Escobar F, editor. *Odontología Pediátrica*. 2ed. Caracas: Amolca; 2004.p.108-120.
- ³⁵ Cuadrado B, Gómez J. Cariología: el manejo contemporáneo de la caries dental. UNAM. 2012:12.
- ³⁶ Shivakumar K, Sumanth, Chandú G. International Caries Detection and Assessment System: A new paradigm in detection of dental caries.
- ³⁷ Guedes R, Figueiredo M. Caries experience in a child population in a deprived area of Brazil, using ICDAS II. *Clin Oral Invest* (2012) 16:513–520.

-
- ³⁸ Ramirez B, Escobar G. Caries de la infancia temprana en niños de uno a cinco años. Medellín, Colombia, 2008. Rev Fac Odontol Univ Antioq vol.22 no.2 Medellín Jan./June 2011.
- ³⁹ González F, Carmona L. Dental caries prevalence with ICDAS criteria and associated factors in Colombian children with primary dentition. Revista Colombiana de Investigación en Odontología 2013; 4 (11): 130 – 141.
- ⁴⁰ Figueroa-Gordon M, Alonso G, Acevedo AM. (2009). Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de Caries dental. Acta odontológica Venezolana 47: 1-13.
- ⁴¹ Salazar L, Vazquez C. Detección Molecular de Estreptococos Cariogénicos en Saliva. Int. J. Morphol., 26(4):951-958, 2008.
- ⁴² Skrivele S, Care R. Caries and its risk factors in young children in five different countries. Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal, 2013; 15:39-46.
- ⁴³ Law V, Seow WK. Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children. Australian Dental Journal 2007;52:(2):93-100.
- ⁴⁴ Yano A, Kaneko N. Real-time PCR for quantification of *Streptococcus mutans*. FEMS Microbiology Letters 217 (2002) 23-30.
- ⁴⁵ Franco T, Amoroso P. Detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Dental Plaque Samples from Brazilian Preschool Children by Polymerase Chain Reaction. Braz Dent J (2007) 18(4): 329-333.
- ⁴⁶ Okada M, Soda Y. PCR detection of *Streptococcus mutans* and *S. sobrinus* in dental plaque samples from Japanese pre-school children. J. Med. Microbiol. 51 (2002), 443–447.
- ⁴⁷ Carmona L, Reyes N. Polymerase Chain Reaction for detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in dental plaque of children from Cartagena, Colombia. 2011; 42(4):430-437.
- ⁴⁸ Umeko R, Taiete T. Mutacins of streptococcus mutans. Brazilian Journal of Microbiology. 201;42:1248-1258.
- ⁴⁹ Okada M, Soda Y. PCR detection of *Streptococcus mutans* and *S. sobrinus* in dental plaque samples from Japanese pre-school children. J. Med. Microbiol. 51 (2002), 443–447.
- ⁵⁰ Carmona L, Reyes N. Polymerase Chain Reaction for detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in dental plaque of children from Cartagena, Colombia. 2011; 42(4):430-437.
- ⁵¹ Carmona L, Reyes N. Polymerase Chain Reaction for detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in dental plaque of children from Cartagena, Colombia. 2011; 42(4):430-437.
- ⁵² Ikeda T, Kurita T, Hirasawua M. Suppression of streptococcus sobrinus 6715 (g) in plaques by streptococcus mutans 32k (c). Joral Pathol. 1989(17):471-474.

ANEXO 1

Consentimiento informado

A quien corresponda:

Yo _____ declaro libre y voluntariamente que ACEPTO que mi hijo

de _____ años de edad, PARTICIPE en el estudio **“Asociación entre la experiencia de caries y la presencia de streptococcus del tipo mutans en niños de 3 a 5 años que acuden a la clínica de estomatología pediátrica de la FEBUAP”**.

Estoy consciente de que los procedimientos, pruebas y tratamientos para lograr los objetivos mencionados consistirán en: realizar IHOS e ICDAS, recolección de placa dentobacteriana antes de cualquier tratamiento de rehabilitación...

Es de mi consentimiento que seré libre de retirar a mi hijo de la presente investigación en el momento que yo así lo desee. También que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios en la participación de mi hijo en este estudio. En caso de que decidiera retirarme, la atención que mi hijo como paciente recibiera en esta institución no se verá afectada.

Nombre padre/madre: _____

Firma: _____

Dirección: _____ Fecha: _____



ANEXO 2

"BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA"

MAESTRIA EN CIENCIAS ESTOMATOLÓGICAS CON TERMINAL EN PEDIATRÍA

Historia clínica

H.C.N.: _____

Nombre: _____ Sexo: _____

Fecha de nacimiento: _____

Nombre del Padre: _____ Teléfono: _____

Nombre de la Madre: _____ Teléfono: _____

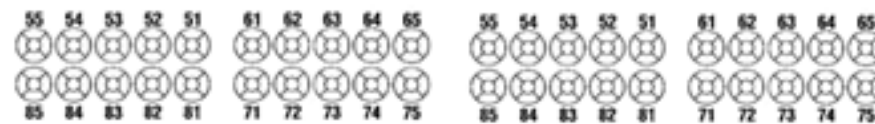
Domicilio: _____

Edad (meses): _____

Escuela: _____

Odontograma:

Índice de O'Leary:



Preguntas:

1.- ¿El niño fue alimentado con biberón?

SI NO Hasta que edad: _____

2.- ¿Cuál es el contenido del biberón? _____

3.- ¿El niño fue alimentado del seno materno?

SI NO Hasta que edad: _____

4.- ¿Cuántas veces al día come el niño?

3 4-5 5-6

5.- ¿Consume alimentos entre comidas? Si no

6.- De los siguientes alimentos, señale cuáles acostumbra a consumir el niño y con qué frecuencia entre comidas:

Jugo SI NO Cuantas veces al día _____

Refresco SI NO Cuantas veces al día _____

Yogurth SI NO Cuantas veces al día _____

Pan SI NO Cuantas veces al día _____

Cereal SI NO Cuantas veces al día _____

Galletas SI NO Cuantas veces al día _____

Plátanos SI NO Cuantas veces al día _____