



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA CON TERMINAL EN PEDIATRÍA

“Asociación entre Anhidrasa Carbónica VI Salival y Severidad de Caries según la Clasificación ICDAS”

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN ESTOMATOLOGÍA CON TERMINAL EN PEDIATRÍA

PRESENTA

C.D. Elsa Daniela Angeles Ungson

Matricula: 223450011

DIRECTOR DE TESIS

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

ID. 100226199

DIRECTOR METODOLÓGICO

D.C. Cristian Dionisio Román Méndez

ID. 100392244

DIRECTOR DISCIPLINARIO

E. P. Nila Claudia Gil Orduña

ID. 100202788

ASESOR EXTERNO:

Dr. Amaury de Jesús Pozos Guillen

LECTOR

Dra. María de los Ángeles Moyaho Bernal

ID. 100289266

Mayo 2025



BUAP

Constancia No. FESIEP/CIFE/173/2023

MEP. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana
Responsable del Proyecto de Investigación
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo el que suscribe MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez en mi calidad de Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; HAGO CONSTAR, que, el Proyecto de Investigación (Colectivo):

Nombre del Título del Proyecto:

"Correlación entre el nivel de actividad de anhidrasa carbónica IV salival y severidad de caries".

Presentado por:

No.	Cargos	Nombres	ID y/o Matrícula
1	Responsable del Proyecto de Investigación:	MEP. Gisela Nataly Rubín de Celis Quintana	100226199
2	Director Metodológico:	EEP. Nila Claudia Gil Orduña	100202788
3	Director Disciplinario:	DC. Cristian Dionisio Román Méndez	100392244
4	Asesor Externo:	Dr. Amaury de Jesús Pozos Guillén Universidad Autónoma de San Luis Potosí	S/N
5	Estudiante de Maestría en Estomatología: <u>Terminal Pediatría</u>	C. Elsa Daniela Angeles Ungson	223450011

ha sido ACEPTADO, y quedara registrado ante el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.), en el libro de registros No. 08, en la página 01, bajo el No. de asignación 2023228 en la Secretaría de Investigación de esta Unidad Académica.

Para los fines legales que los interesados convengan, y sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a lunes 21 de noviembre del 2023

MO. Farid Alfonso Dipp Velázquez
Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología



*C.c.p. Archivo
*MCO. FJMA/MO.FADV/Yaneth

Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
31 poniente 1304, Col. Volcanes
Puebla, Pue.
C.P. 72410
Tel. Of. 22*22 29 55 00
Ext. 5526



Constancia No. FESIEP/CIFE/129/2025

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana
Directora y Responsable del Proyecto de Investigación
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, en mi doble calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado y Presidenta del Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, me permito informarle sobre una actualización significativa respecto al Proyecto de Investigación (Colectivo) que Usted lidera.

i. Antecedentes del Proyecto de Investigación:

- Número de Asignación: 2023228.
- Fecha de Registro: martes 21 de noviembre del 2023.
- Libro de Registro: 08, página 01.
- Comité ante el cual se registró: Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.).

Título original:

“Correlación entre el nivel de actividad de anhidrasa carbónica IV salival y severidad de caries”

Integrantes originales del Proyecto de Investigación:

No.	Cargos	Nombres	ID - Matrículas
1	Directora y Responsable del Proyecto de Investigación:	MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana	100226199
2	Director Disciplinario:	DC. Cristian Dionisio Román Méndez	100392244
3	Directora Metodológica:	EEP. Nila Claudia Gil Orduña	100202788
4	Asesor Externo:	DC. Amaury de Jesús Pozos Guillén Universidad Autónoma de San Luis Potosí (U.A.S.L.P.) - San Luis Potosí, México	S/N
5	Estudiante de Maestría en Estomatología <u>Terminal en Pediatría</u>	C. Elsa Daniela Ángeles Ungson	223450011



BUAP

ii. Solicitud de Modificación v Aprobación:

El día jueves 03 de abril del presente año, el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.) recibió formalmente su solicitud de actualización respecto al cambio en título de su Proyecto de Investigación.

Tras un análisis detallado y conforme a los criterios establecidos, se ha aprobado la actualización solicitada.

iii. Datos Actualizados del Proyecto de Investigación

Título modificado:

"Asociación entre Anhidrasa carbónica IV salival y severidad de caries según la clasificación de ICDAS".

Por lo anterior, el equipo de investigación y los roles asignados permanecen inalterados. Es importante destacar que esta actualización para para efectos legales y administrativos pertinentes.

En virtud de lo anterior, se deja constancia de las modificaciones aprobadas, mismas que surten efectos a partir de la presente comunicación.

Reiterando mi disposición para atender cualquier consulta adicional, me permito expresarle mi reconocimiento por su compromiso con la investigación en nuestra Facultad.

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a jueves 13 de marzo de 2023

MEP. Gisel Nataly Rubin de Celis Quintana
Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología



*C.c.p. Archivo
*MCO. FJMA/MEP. GNRCQ/Janeth

Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología | 31 poniente 1304, Col. Volcanes
Puebla, Pue.
C.P. 72410
Tel. Of. 22*22 29 55 00
Ext. 5526

Página 2 de 2

ÍNDICE

1. Índice de abreviaturas.....	8
2. Introducción	9
3. Antecedentes Generales.....	11
3.1 Caries	11
3.2 Epidemiología de caries	11
3.3 Patogénesis de caries	12
3.4 Manifestaciones clínicas e histológicas	15
3.5 Etiología de caries	16
3.5.1 Factores contextuales:	17
3.5.2 Factores socioeconómicos y demográficos:	17
3.5.3 Factores conductuales:	19
3.5.4 Factores biológicos	22
3.6 Diagnóstico de caries.....	29
3.6.1 Métodos de detección visual y epidemiológica	30
3.6.2 Uso de radiografías y métodos novedosos.....	31
3.7 Riesgo a caries	32
3.8 Impacto de la caries.....	33
4. Antecedentes específicos	35
5. Planteamiento del problema	38
6. Pregunta de investigación:.....	39
7. Justificación	40
8. Hipótesis	41
8.1 Hipótesis científica (hi):	41
8.2 Hipótesis nula (ho):	41
9. Objetivos.....	42
9.1 Objetivo general	42
9.2 Objetivos particulares o específicos	42
10. Materiales y métodos	43
10.1 Diseño del estudio.....	43
10.2 Población y muestra.....	43

10.3 Criterios de selección	44
10.3.1 Criterios de inclusión:	44
10.3.2 Criterios de exclusión:.....	44
10.3.3 Criterios de eliminación.....	44
10.4 Variables.....	45
10.5 Concordancia y fiabilidad	47
10.6 Ubicación espacio-temporal	49
10.7 Diagrama de flujo.....	50
10.8 Procedimientos, técnicas y fuentes de recolección	51
10.8.1 Evaluación de lesiones de caries:	51
10.8.2 Recolección de muestras de saliva:	54
10.8.3 Pruebas salivales:	57
10.9 Análisis estadístico.....	71
9. Resultados.....	72
10. Discusión	83
11. Conclusión	91
12. Bioética	92
13. Bibliografía.....	94
14. Anexos.....	106
14.1 Anexo 1 Concordancia y fiabilidad	106
14.2 Anexo 2 Consentimiento informado	107
14.3 Anexo 3 Instrumentos de recolección de la información.....	108
15. Productos de la investigación.....	109
15.1 Participación en el Congreso Nacional e Internacional de la Facultad de Odontología UNAM-AMIC 2025	109

1. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AAPD: American Academy of Pediatric Dentistry

ADA: American Dental Association

CA VI: Anhidrasa Carbónica VI

CAMBRA: Caries Management by Risk Assessment

CAT: Caries Risk Assessment Tool

CCI: CariesCare International

ceod: Cariados, extraídos y obturados (dentición temporal)

CIT: Caries de la Infancia Temprana

CPOD: Cariados, Perdidos y Obturados (dentición permanente)

CRA: Caries Risk Assessment

HAP: Hidroxiapatita

ICDAS: International Caries Detection and Assessment System

OMS: Organización Mundial de la Salud

SIVEPAB: Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales

2. INTRODUCCIÓN

Según el Informe Global sobre el Estado de la Salud Bucodental de la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicado en 2022, se estima que aproximadamente 514 millones de niños en todo el mundo padecen caries en los dientes temporales [1]. En la población infantil mexicana, los datos más recientes del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) 2023, de una muestra total de 7,763 niños de 2-5 años, el 72.2% presentó caries [2]. En comparación con los datos del SIVEPAB del 2009 a partir de una muestra total de 7,631 niños de la misma edad, el 35.8% padecía de caries [3]. Esto muestra un aumento en la prevalencia de esta enfermedad en la población infantil mexicana a lo largo de los últimos 13 años, lo que demuestra la necesidad de ampliar las herramientas de prevención, detección temprana y atención pública infantil.

La caries es de etiología multifactorial y tiene como consecuencia la pérdida mineral neta de tejidos duros dentales, por los ataques ácidos en el biofilm [4]. La saliva bajo condiciones adecuadas tiene un papel importante en la remineralización del esmalte y en la neutralización de los productos ácidos del metabolismo microbiano [5,6]. El principal mecanismo amortiguador de ácidos en la saliva es el sistema de bicarbonato/ ácido carbónico, llevado a cabo por la isoenzima Anhidrasa Carbónica (CA VI). Este sistema de bicarbonato ayuda a eliminar el exceso de H^+ presentes en el biofilm dental, para neutralizar el pH y disminuir el riesgo del inicio o evolución del proceso cariogénico [7].

Alteraciones en el sistema de bicarbonato pueden indicar un mecanismo de defensa que se encuentra saturado o funciona inadecuadamente ante los ataques ácidos, esto puede indicar un huésped susceptible a una rápida evolución en el proceso cariogénico.

Este estudio tuvo el propósito de asociar los niveles de CA VI, una enzima clave en la capacidad buffer de la saliva, con la progresión de las lesiones cariosas. Además, pretende contribuir a la comprensión del papel de la CA VI como un posible biomarcador en la evaluación del riesgo de caries, así como en el diseño de estrategias de prevención y diagnóstico en salud bucal.

Palabras clave:

Anhidrasa carbónica 6, Anhidrasa carbónica VI, caries, ICDAS, capacidad buffer salival.

3. ANTECEDENTES GENERALES

3.1 Caries

La caries es una enfermedad dinámica, crónica, multifactorial, no transmisible ni infecciosa, mediada por biopelículas, modulada por factores biológicos, conductuales, psicosociales y ambientales [8]. El proceso de caries se caracteriza por la pérdida activa de minerales en los tejidos duros dentales, causada por la actividad metabólica de microorganismos presentes en el biofilm. Este proceso se ve favorecido por el consumo frecuente de hidratos de carbono fermentables e inadecuado cuidado bucodental [9].

Cuando esta enfermedad se presenta en niños menores de 6 años, se denomina **Caries de la Infancia Temprana (CIT)**. Se define como: "La presencia de una o más lesiones de caries (cavitadas o no cavitadas), dientes ausentes (debido a caries) o restaurados en cualquier diente temporal de un niño menor de 6 años". La CIT se caracteriza por su rápida progresión y es particularmente alarmante, ya que aumenta la predisposición a sufrir caries a lo largo de la vida [10]. La CIT se desencadena por diversos factores, entre los que destacan: el consumo habitual de carbohidratos fermentables o azúcares libres, el uso de biberón nocturno, una higiene bucal deficiente proporcionada por los padres o cuidadores, así como condiciones sistémicas y otros factores asociados [8,11].

3.2 Epidemiología de caries

La caries dental constituye un problema de salud pública mundial debido a su alta prevalencia. Según el informe de 2022 de la **Organización Mundial de la Salud (OMS)**, la caries no tratada es la afección más común a nivel global, afectando a

aproximadamente 3,500 millones de personas. Además, se considera la enfermedad crónica más frecuente, con una prevalencia significativa en la dentición temporal que afecta a 514 millones de niños [1,12]. La situación en México es igualmente alarmante, el **Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) 2023** reportó una prevalencia del 72.2% de caries en la infancia temprana [2]. En comparación, los primeros datos reportados por este sistema en 2009 indicaban que el 35.8% de los niños en la misma etapa de desarrollo padecían caries. Esto evidencia que, en lugar de una disminución en los casos, la incidencia ha aumentado en la última década [2,3].

Este incremento se relaciona directamente con la falta de herramientas preventivas y de atención eficaces dentro de los sistemas de salud. La carencia de estrategias adecuadas para prevenir y tratar esta enfermedad dificulta abordar de manera efectiva este desafío de salud pública a nivel nacional [1].

3.3 Patogénesis de Caries

En la cavidad bucal habitan diversos microorganismos que conforman el microbiota bucal. Estos microorganismos forman comunidades de diferentes especies que se adhieren a una matriz polimérica extracelular, compuesta de polisacáridos, conocida como biofilm [8,13]. Aunque su presencia es generalmente imperceptible a simple vista, se encuentra en las distintas superficies de la cavidad bucal, como los tejidos blandos y los dientes [8,14]. El biofilm es esencial para la salud bucal, ya que facilita una relación simbiótica entre los microorganismos residentes y el huésped [15].

Cuando no se realiza una adecuada desorganización del biofilm, este puede madurar sobre las superficies dentales [4]. Según la “hipótesis de la placa ecológica” de Marsh

(1994), el biofilm cambia de un estado sano a uno patógeno debido a la interacción entre la actividad de los microorganismos y el entorno bucal [16,17]. El ambiente bucal, a su vez, está afectado por factores de riesgo del huésped, entre ellos factores sistémicos, hábitos dietéticos y conductuales [4].

Los tejidos duros dentales están compuestos principalmente por mineral fosfato de calcio hidroxiapatita (HAP). Millones de estos cristales de hidroxiapatita componen la unidad estructural principal del esmalte que son los prismas del esmalte y lo convierte en el tejido más duro del cuerpo. No obstante, frente a ataques químicos frecuentes, este se vuelve susceptible, ya que los ácidos empiezan a penetrar entre los prismas del esmalte [18].

La desmineralización de estos tejidos depende del pH en el entorno bucal y del mecanismo de reparación natural del cuerpo que es la remineralización mediante iones de fosfato y calcio provenientes de la saliva. Bajo condiciones fisiológicas, tanto la saliva como el biofilm bucal tienen un pH cercano a la neutralidad (entre 6.2 y 7.6). La variación de estos factores locales determinará si el esmalte, experimentará desmineralización o remineralización [18].

Cualquier alteración en el entorno bucal pueden modificar el pH del biofilm, volviéndolo más acidogénico e influyendo en el inicio de un proceso cariogénico [19–23]. Bajo estas condiciones, las bacterias oportunistas presentes en el biofilm descomponen los azúcares dietéticos, generando una matriz extracelular que favorece su adhesión a las superficies dentales y las protege de los factores externos [4].

Las bacterias acidogénicas metabolizan carbohidratos fermentables, produciendo ácidos orgánicos, como ácido láctico, fórmico, acético y propiónico [24,25]. Estos ácidos se difunden a través de los prismas del esmalte, alcanzando la dentina o el cemento, y provocan la disolución parcial de los minerales de hidroxiapatita [14,26]. Como consecuencia, los iones de calcio y fosfato liberados por la disolución mineral se difunden fuera del diente, afectando su integridad estructural [25]. Si los procesos de desmineralización persisten debido a ataques ácidos repetidos, los tejidos duros más profundos seguirán perdiendo minerales, lo que puede llevar a su fractura y al desarrollo de lesiones extensas de caries. En etapas avanzadas, este daño puede desencadenar inflamación pulpar y eventualmente, necrosis pulpar [14].

Sin embargo, el proceso de desmineralización puede revertirse en cualquier momento a través de la remineralización, siempre que el pH vuelva a la neutralidad y los iones de calcio, fosfato y fluoruro se difundan hacia el diente a través de la saliva. Estos iones se depositan sobre los remanentes cristalinos de la lesión, formando una nueva capa de cristales mixtos de fluorhidroxiapatita [18]. Los cristales recién formados o parcialmente regenerados presentan una menor solubilidad en comparación con los originales, lo que los hace más resistentes a futuros ataques ácidos [27]. A lo largo del día, el proceso de desmineralización y remineralización ocurre en múltiples ocasiones, determinando si el diente experimentará cavitación o reparación.

La evolución de una lesión cariosa ya sea su progresión, estabilidad o reversión, depende del equilibrio entre los factores protectores y los factores patológicos. Si los factores patológicos predominan, la caries avanza, mientras que, si los factores protectores son mayores, el proceso se puede detener o revertir [24]. Entre los factores

patológicos se encuentran la disbiosis del microbiota bucal, proliferación de bacterias acidogénicas, la disfunción de las glándulas salivales y el consumo frecuente de carbohidratos fermentables. En contraste, los factores protectores incluyen diversos componentes salivales, como calcio, fosfato y fluoruro, así como sistemas buffer que regulan el pH de la saliva. Además, las proteínas protectoras que conforman la película adquirida, los compuestos antibacterianos naturales en la saliva, el fluoruro de fuentes externas y sustancias que estimulan la función salival, como el chicle sin azúcar, también contribuyen a la defensa contra la caries. El equilibrio entre estos factores es determinante en el desarrollo y progresión de la caries en un paciente [9].

3.4 Manifestaciones clínicas e histológicas

Es importante reconocer que la caries presenta una gran variabilidad en su manifestación de lesiones clínicas. Inicialmente, se detecta como una mancha blanca de apariencia opaca, similar al gis, en superficies lisas del esmalte, lo que indica un proceso de desmineralización. Si esta lesión no recibe tratamiento oportuno, progresa, aumentando su extensión y profundidad. Eventualmente, se produce una cavitación en el esmalte que puede alcanzar la dentina, momento en el cual la lesión se vuelve sintomática [26].

En la interfase dentino-pulpar, los odontoblastos, células especializadas que forman parte de la pulpa dental, reaccionan ante el ataque microbiano mediante un proceso inflamatorio. En respuesta, secretan quimiocinas y generan dentina terciaria, un tejido de protección sintetizado con el apoyo de las células madre presentes en el tejido pulpar. Sin embargo, cuando la lesión avanza de manera significativa, se produce la necrosis de los odontoblastos localizados en los túbulos dentinarios. Si la lesión alcanza la pulpa

dental, se desencadenan procesos inflamatorios severos que eventualmente conducen a la degeneración y necrosis del tejido pulpar, regulados por diversos tipos celulares presentes en esta región [28].

Los síntomas asociados a las lesiones de caries incluyen molestias, sensibilidad y dolor, mientras que las complicaciones en etapas avanzadas abarcan inflamación del tejido pulpar o de los tejidos circundantes al diente afectado, infecciones agudas y crónicas, formación de abscesos, celulitis y en casos graves pérdida dental [29].

3.5 Etiología de Caries

La caries es una enfermedad multifactorial que se desarrolla a partir de la interacción de diversos factores que pueden coexistir y contribuir tanto a su inicio como a su progresión [30]. Entre los principales factores que deben existir para que se lleve a cabo la enfermedad son microorganismos en un biofilm, presencia de carbohidratos fermentables de la dieta, un huésped y el tiempo [14,31].

Además, múltiples factores de riesgo están asociados con el desarrollo de caries [32]. Estudios epidemiológicos han identificado que el estatus socioeconómico bajo, factores genéticos, fisiológicos, ambientales y el bajo peso al nacer aumentan la susceptibilidad a esta enfermedad [33]. Asimismo, la exposición constante a carbohidratos fermentables debido a una alimentación inadecuada, junto con diversos factores sociales, también influyen en su desarrollo y progresión [32,34].

3.5.1 Factores contextuales:

Existen factores externos que influyen en el desarrollo de caries; el ambiente y contexto en el que se vive, valores sociales, culturales, deficiencias en los programas y servicios de la salud pública; estos últimos son afectados por la falta en la inversión económica, promoción de la salud bucal y programas de prevención como la fluoración comunitaria [35].

En un estudio realizado para evaluar los factores etiológicos de la caries en países de América Latina y el Caribe, se analizaron los niveles de gasto en salud como porcentaje del Producto Interno Bruto (PIB). Los resultados incluyeron estimaciones del gasto actual en salud, considerando bienes y servicios médicos consumidos anualmente en cada país. En este contexto, México presentó un gasto en la salud aproximado del 5.7% de su PIB del periodo analizado del 2006-2014, ubicándose en un nivel intermedio-bajo en comparación con otras naciones de la región [35]. Esta limitada asignación de recursos podría influir negativamente en la prevención y el tratamiento de enfermedades bucodentales, como la caries. Un menor presupuesto destinado a la salud implica posibles deficiencias en el acceso a servicios odontológicos, campañas de prevención y educación sobre higiene bucal [36].

3.5.2 Factores socioeconómicos y demográficos:

El desarrollo de la caries está influenciado por diversos factores individuales, los cuales pueden agruparse en aspectos socioeconómicos, educativos, demográficos y de salud. Entre ellos se incluyen la etnicidad, la cultura, el nivel socioeconómico, el nivel

educativo, los ingresos, edad, género, la presencia de necesidades especiales y las enfermedades sistémicas [37].

Impacto del Nivel Socioeconómico y la Educación

Numerosos estudios han demostrado que la caries afecta de manera desproporcionada a los niños en condiciones socioeconómicas desfavorables. Un análisis sobre la relación entre la carga de lesiones de caries y la desigualdad evidenció que, los niños pertenecientes al quintil más pobre presentan una mayor prevalencia de esta enfermedad en comparación con aquellos de niveles económicos más altos [38].

El nivel educativo de los padres se considera un indicador de la posición socioeconómica del niño, ya que la educación proporciona habilidades y conocimientos que favorecen la comunicación y aumentan la receptividad a la información sobre salud bucodental [39]. A su vez, el empleo y los ingresos familiares determinan el acceso tanto a la educación como a los servicios odontológicos. En consecuencia, las familias con menores recursos suelen enfrentar una mayor exposición a factores de riesgo que contribuyen al desarrollo de la caries [40,41].

Diferencias Demográficas en la Prevalencia de Caries

Se ha identificado variaciones en la prevalencia de caries según la edad, el género y la etnicidad. Por ejemplo, se ha observado que las niñas presentan un índice de caries superior al de los niños, lo que sugiere posibles diferencias biológicas o de hábitos de higiene bucal entre ambos sexos. En cuanto a la edad, una investigación realizada en México en niños de entre 3 y 6 años reveló que a medida que los niños crecen, la

prevalencia y severidad de la caries aumenta. Esto puede estar relacionado con la prolongada exposición a factores de riesgo [42].

Ciertos grupos étnicos e inmigrantes tienen una mayor predisposición a desarrollar caries en comparación con otros sectores de la población. Factores como el acceso limitado a servicios de salud, la alimentación y los hábitos de higiene pueden desempeñar un papel crucial en esta población [43].

3.5.3 Factores conductuales:

Los factores de riesgo conductuales abarcan patrones dietéticos poco saludables, como un alto consumo de azúcares libres, una higiene bucal ineficiente, exposición insuficiente a fluoruro particularmente por la falta de uso de pastas dentales con fluoruro y la falta de atención odontológica preventiva de manera regular [35].

Azúcares y dieta

Las elecciones alimenticias desempeñan un papel crucial en el desarrollo de la caries, especialmente cuando la dieta es rica en carbohidratos fermentables y azúcares libres [44]. Estos últimos, presentes tanto en productos procesados como de forma natural en la miel, los jarabes y los jugos de frutas, constituyen un factor determinante en la aparición de caries, ya que influyen en la formación y composición del biofilm dental [45,46]. Una alimentación inadecuada prolonga la exposición de los dientes a azúcares, lo que incrementa significativamente el riesgo de sufrir esta enfermedad [45].

El impacto de la dieta en la incidencia de caries depende, en gran medida, de dos factores: la edad a la que se introduce el azúcar en la alimentación y la frecuencia con la

que se consume. Introducir azúcar en la dieta de un bebé en etapas tempranas favorece la formación de un microbiota cariogénico. Además, el contacto precoz con el azúcar refuerza la preferencia por los alimentos dulces, lo que suele derivar en un mayor consumo de productos con altos niveles de azúcares añadidos [47].

Existe una relación dosis-dependiente entre la ingesta de carbohidratos y la aparición de caries. A medida que aumenta el consumo de carbohidratos, en particular los azúcares, se eleva el riesgo de desarrollar esta afección [46]. Este fenómeno se debe a la producción constante de ácidos, lo que genera un ambiente con un pH extremadamente bajo en el biofilm dental. Como consecuencia el ciclo de desmineralización y remineralización se ve afectado, favoreciendo al primero y a la progresión de la caries [35,45].

La **Organización Mundial de la Salud (OMS)** emitió una recomendación para limitar la ingesta de estos azúcares con el objetivo de prevenir tanto la obesidad como la caries a lo largo de la vida. Se recomendó reducir el consumo de azúcares libres a menos del 10% del aporte calórico diario. El consumo de azúcares libres no debería superar los 50 gramos por día, aunque esta cantidad varía según el tipo de azúcar ingerido [48]. Los azúcares libres incluyen los monosacáridos y disacáridos añadidos a los alimentos y bebidas, tanto por la industria como por los propios consumidores [46].

Por otro lado, reducir aún más la ingesta de azúcares libres, hasta menos del 5% del consumo calórico total, podría aportar beneficios adicionales. Seguir esta última recomendación haría extremadamente improbable el desarrollo de caries, incluso en ausencia de fluoruro [48].

Beneficios de la reducción del azúcar (cantidad y frecuencia):

1. Disminuye la disponibilidad de sustrato para el metabolismo de las bacterias acidogénicas.
2. Reduce la formación de la matriz del biofilm.
3. Limita el crecimiento de bacterias acidúricas.
4. Favorece un biofilm más delgado y menos agresivo [49].

Higiene bucal y productos fluorados

El mantenimiento de un biofilm bucal saludable depende en gran medida de una desorganización mecánica regular y suave, lo que ayuda a prevenir la formación de comunidades bacterianas maduras, especialmente en zonas propensas a la acumulación de biofilm. Con el paso del tiempo, la composición del biofilm cambia después de la higiene bucal. Sin embargo, un cepillado adecuado y constante, al menos dos veces al día, favorece el equilibrio del microbioma bucal [50].

El cepillado dental es una estrategia sencilla y accesible para garantizar una administración constante de fluoruro en la cavidad bucal. Sin embargo, el uso de pastas dentales sin fluoruro se ha relacionado con una mayor incidencia de caries en niños. Por el contrario, la combinación del cepillado regular con una pasta fluorada produce un menor riesgo de desarrollar caries [51,52].

Visitas regulares de prevención

Las visitas odontológicas preventivas frecuentes están relacionadas con la preservación de la salud bucal y una menor necesidad de tratamientos restaurativos a lo largo de la vida. La atención periódica permite detectar y tratar oportunamente enfermedades como la caries [53].

Asimismo, la aplicación profesional de barniz o gel de fluoruro es altamente efectivo para prevenir caries en dientes temporales y permanentes [54]. La frecuencia de las visitas odontológicas varía según el nivel de riesgo del paciente y su edad, pudiendo oscilar entre controles cada 3 meses en casos de alto riesgo y hasta cada 6, 12 o 24 meses en pacientes de bajo riesgo a caries [54,55].

3.5.4 Factores biológicos

Los factores de riesgo de caries en este grupo abarcan presencia de biofilm con potencial cariogénico, antecedentes recientes de caries, lesiones activas, anomalías en la formación del esmalte dental, composición y función salival [35].

Disbiosis del Microbioma Bucal:

El microbiota bucal es una comunidad microbiana única en cada individuo, compuesta por una amplia diversidad de especies. En una persona sana, se estima que alrededor de 200 especies colonizan la cavidad bucal, de un total superior a 700 especies identificadas. El microbiota mantiene una relación simbiótica con el huésped, en el que los microorganismos bucales residentes contribuyen a la exclusión de patógenos y modulan a la baja respuestas inflamatorias no deseadas [56]. Una vez establecida, el

microbiota bucal suele ser estable y resistente a factores externos. No obstante, cuando los factores de estrés ambiental superan su capacidad de adaptación, esta estabilidad puede verse comprometida [57].

El consumo frecuente y excesivo de azúcares puede alterar el equilibrio ecológico del biofilm bucal. En tales condiciones, ciertas bacterias acidogénicas y acidúricas, que en condiciones normales son comensales, comienzan a proliferar hasta alcanzar niveles críticos, generando un ambiente con pH bajo, lo que facilita su transición a un estado patológico [26,57]. De manera similar, la reducción en el flujo salival y falta de desorganización mecánica del biofilm (limpieza dental regular) pueden provocar cambios similares [58]. Por esta razón, la caries ha sido descrita por *Marsh* como una "*catástrofe ecológica microbiana*" [59]. Este concepto, junto con la hipótesis ecológica de la placa dental, enfatiza que para prevenir o controlar la enfermedad es necesario interrumpir los factores que impulsan la disbiosis [4].

Microorganismos involucrados en la caries

Las bacterias implicadas en la caries poseen un perfil acidogénico y acidófilas [60,61]. En un biofilm bucal sano, este tipo de microorganismos representan menos del 1% del microbioma total [62]. Sin embargo, cuando la caries progresa, el ambiente se torna más ácido permitiendo que las bacterias acidúricas se multipliquen y reemplacen a especies comensales beneficiosas [63].

Entre los principales grupos de bacterias relacionadas con la formación y progresión de la caries, destacan:

1. Los estreptococos del grupo mutans (*Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*).
2. Bacterias del género *Lactobacillus*, cuya presencia está altamente correlacionada con lesiones avanzadas de caries [64–66].

El *Lactobacillus* tiene un papel fundamental en el desarrollo de la caries, ya que acidifica el microambiente de las lesiones iniciales, favoreciendo a la formación de nichos protectores donde puede multiplicarse y sobrevivir [67]. Por otro lado, *S. mutans* metaboliza los azúcares en ácidos, lo que contribuye directamente a la desmineralización del esmalte dental. Asimismo, especies del género *Actinomyces*, como *Actinomyces gerencseriae*, han sido vinculadas con la fase inicial de la caries, mientras que bacterias del género *Bifidobacterium* han sido asociadas con lesiones cariosas profundas. Ciertas especies de *estreptococos* distintos a *S. mutans*, que poseen propiedades acidogénicas y acidófilicas, también han sido identificadas como participantes en la progresión de la caries. Además de las bacterias, otros microorganismos contribuyen al desarrollo de la caries:[63]

5. *Levaduras sacarolíticas*, como *Cándida albicans*, una de las más prevalentes en la cavidad bucal.
6. Arqueas, que pueden potenciar los procesos fermentativos, favoreciendo la producción de ácidos.
7. Bacteriófagos, virus que infectan bacterias y pueden facilitar la transferencia de genes, contribuyendo a la evolución y virulencia del microbiota bucal [68,69].

El desarrollo de la caries está influenciado por una serie de interacciones microbianas que determinan la estabilidad del microbioma bucal, lo que hace que su equilibrio sea un factor clave en la prevención y tratamiento de la enfermedad [70,71].

Experiencia de caries

La experiencia de caries se refiere al número de dientes o superficies afectados por caries, restauraciones o pérdidas dentales a causa de la enfermedad, acumulados hasta un momento determinado. En su evaluación, tradicionalmente se ha utilizado el índice epidemiológico de dentición temporal que registra el total de dientes temporales cariados, extraídos y obturados (ceod). Sin embargo, en la actualidad existen nuevos métodos de prevalencia y severidad de caries [8]. La experiencia de caries es un factor clave en el riesgo de desarrollar nuevas lesiones en el futuro. Su capacidad predictiva varía según la edad, con una precisión moderada a alta en niños preescolares y más limitada en escolares y adolescentes [72].

Defectos del desarrollo del esmalte

Los defectos en el desarrollo del esmalte, que incluyen anomalías como hipoplasias o hipomineralización, son considerados factores de riesgo clave para el desarrollo de caries, debido principalmente a la acumulación de biofilm y a la alta susceptibilidad a fracturas del esmalte post-erupción [73]. Se ha demostrado que condiciones adversas durante el periodo prenatal, como el nacimiento prematuro, el bajo peso al nacer, la desnutrición y enfermedades, están asociadas con estas anomalías en el esmalte [74]. Aunque estos defectos se reconocen como un riesgo independiente para las caries,

todavía no se ha establecido una relación causal entre estos y la incidencia de caries [75].

Pacientes con necesidades especiales

Las necesidades especiales pueden clasificarse en categorías por su área de afectación en: cognitiva, física, auditiva, múltiple y visual [76]. Las discapacidades derivadas de deficiencias físicas o cognitivas, como la parálisis cerebral o diversos síndromes, impactan significativamente en sus actividades cotidianas y de autocuidado. Estas condiciones requieren de asistencia para el cepillado dental, la falta de esta asistencia puede deteriorar la higiene bucal, que incrementa el riesgo de desarrollar caries y enfermedades periodontales [77]. La incapacidad para mantener una adecuada higiene bucal es un factor en la alta incidencia de estos problemas. Además, pueden presentarse complicaciones adicionales como respiración bucal, maloclusiones y efectos secundarios de medicamentos. En muchos casos, la salud bucal de estos pacientes tiene una relación directa con sus discapacidades físicas o mentales [76,78].

Saliva

La saliva, un fluido biológico incoloro y neutro en condiciones normales, tiene un pH que oscila entre 6.5 y 7. La saliva total es una mezcla de secreciones de las glándulas salivales mayores (parótidas, submandibulares, sublinguales) y menores, junto con líquido crevicular, restos celulares, alimentos, bacterias y sus metabolitos [79]. La glándula salival que produce mayor secreción es la parótida, con secreción de tipo seroso y contenido alto de bicarbonato. Cuando la saliva producida por las glándulas continua

en su conducto y no se ha contaminado en el medio bucal con los restos celulares, de alimentos, bacterias y otros, se conoce como saliva glandular [80].

El flujo, volumen y propiedades salivales son influenciados por factores como la edad, la higiene bucal, hábitos alimenticios, medicamentos, niveles de hidratación, ritmo circadiano y ejercicio [81]. En condiciones normales, la producción salival varía entre 0.5 y 1.5 litros al día. El flujo de saliva no estimulada es aproximadamente de 0.3-0.4 ml/min, reduciéndose a 0.1 ml/min durante el sueño. Sin embargo, actividades como comer o masticar pueden incrementar el flujo salival hasta 4.0-5.0 ml/min [79].

La saliva contiene componentes inorgánicos y proteínas que interaccionan con las superficies de la cavidad bucal, reduciendo el riesgo de caries [82]. Entre sus mecanismos de protección innatos, la saliva facilita la limpieza mecánica, disminuye la solubilidad de los iones de calcio, fosfato y fluoruro, y posee actividad antimicrobiana y neutralizante [83]. Además, las proteínas salivales, como las defensinas y catelicidinas con funciones antibacterianas y las histatinas antifúngicas, protegen las estructuras bucales [84].

La saliva no solo es crucial en la protección contra la caries por su capacidad de restaurar el pH del biofilm dental cuando las bacterias producen ácidos, sino también por su tasa de flujo que elimina los ácidos de la cavidad bucal y las proteínas salivales que forman una barrera semipermeable reduciendo el contacto de los ácidos con los dientes [24].

La hiposalivación es la disminución del flujo salival se encuentra relacionada con la caries. Trastornos sistémicos y metabólicos como el síndrome de Sjögren, ciertos

medicamentos y la irradiación de cabeza y cuello pueden causar hipofunción salival, aumentando el riesgo de caries [85].

En condiciones normales, la saliva está saturada y su actividad iónica de calcio y fosfato es equivalente a la solubilidad de la hidroxiapatita del esmalte, previniendo la desmineralización de las estructuras dentales [5]. La capacidad buffer de la saliva permite resistir cambios en el pH, neutralizando ácidos en el ambiente bucal mediante sistemas de fosfato, proteínas y bicarbonato [86,87]. El sistema tampón de fosfato actúa mediante el ion HPO_4 que se une a un ion de hidrógeno para formar H_2PO_4^- , creando un par ácido-base con un valor pKa de 6.8-7.2, cercano al pH salival de 6-8, aunque su acción es limitada por las bajas concentraciones de fosfato en la boca [86–88].

Por otro lado, las proteínas salivales tienen capacidad buffer debido a sus puntos isoeléctricos, oscilando entre pH 5 y 9. Pueden aceptar protones cuando están debajo de su punto isoeléctrico y liberarlos cuando están por encima. Esta función amortiguadora es especialmente efectiva en estados alcalinos y puede aumentar la viscosidad de la saliva, formando una barrera física que protege los dientes [89]. El principal mecanismo amortiguador de la saliva estimulada por su capacidad buffer es el sistema de bicarbonato/ ácido carbónico [6].

Anhidrasa carbónica VI

La anhidrasa carbónica VI (CA VI) es una isoenzima secretada por las glándulas salivales mayores, principalmente por la glándula parótida y la submandibular. Es la única isoenzima secretada de la familia de las anhidrasas carbónicas, que lleva a cabo el sistema de bicarbonato/ ácido carbónico [90]. Esta enzima es importante en el

mantenimiento del pH salival a niveles neutros por su capacidad buffer en situaciones en las que hay un pH crítico [91].

Se encarga de elevar el pH ácido, mediante el catabolismo de la reacción reversible del dióxido de carbono $\text{-CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$; CO_2 es dióxido de carbono, H_2CO_3 es ácido carbónico y HCO_3^- es bicarbonato. Posterior a la alimentación, dos cambios notables suceden a nivel de la cavidad bucal, la disminución del pH que conduce a un aumento en la concentración de bicarbonatos. Estos penetran el biofilm y se acumulan en la superficie del esmalte, ayudan a remover las cantidades excesivas de H^+ de los productos bacterianos [92]. Después el equilibrio en esta reacción se desplaza a la izquierda y se produce un exceso de ácido carbónico, que requiere eliminarse. El aumento en la concentración de ácido carbónico produce CO_2 , que se difunde a través de la boca al medio ambiente. De esta forma se disminuye la concentración de ácido carbónico y se requiere establecer otra vez el equilibrio, así es como se unen bicarbonatos al hidrogeno para formar ácido carbónico. Este sistema de ácido carbónico ayuda a eliminar el exceso de H^+ presentes en el biofilm, neutralizar el pH y disminuir el riesgo de inicio de caries [7,22,23].

3.6 Diagnóstico de caries

La detección oportuna de caries es fundamental para definir estrategias de tratamiento y prevención adecuadas. El proceso de detección se basa en la identificación de signos clínicos de caries en diferentes etapas, ya sean lesiones no cavitadas, microcavitadas o cavitadas. Además de la inspección clínica, existen herramientas

auxiliares para detectar caries, como los estudios radiográficos y diversos métodos ópticos, digitales y estudio a nivel histológico del tejido dental.

3.6.1 Métodos de detección visual y epidemiológica

Uno de los métodos de detección más empleados tanto en investigación epidemiológica como a nivel individual es el índice desarrollado por la OMS que cuantifica el número de dientes cariados, perdidos y obturados (CPOD). En la dentición temporal este mismo índice se conoce como ceo-d, señalan la experiencia de caries y establece la severidad de caries mediante los valores obtenidos:

- 0-1.1 Muy Bajo
- 1.2-2.6 Bajo
- 2.7-4.4 Moderado
- 4.5 - 6.5 Alto
- 6.6 > Muy Alto

Sin embargo, la principal limitación de estos índices radica en que solo contemplan lesiones cavitadas, dejando por fuera las fases iniciales que suelen manifestarse como manchas blancas en el esmalte [93,94].

Para mejorar la precisión en la detección y clasificación de caries, en 2002 se desarrolló el **Sistema Internacional de Detección y Diagnóstico de Caries (ICDAS**, por sus siglas en inglés). Su objetivo principal es unificar criterios clínicos y de investigación, y reducir ambigüedades generadas por métodos previos [95]. Este sistema no solo describe claramente los estadios de progresión de caries tanto en esmalte como

en dentina, sino que también correlaciona los hallazgos clínicos con la extensión histológica de las lesiones. La evaluación de cada superficie dental bajo condiciones húmedas y secas resulta esencial, ya que las primeras alteraciones del esmalte son más visibles cuando el diente está limpio y seco. Cada lesión recibe un código del 0 al 6, según su severidad. La inclusión de lesiones de esmalte tanto no cavitadas como cavitadas aumenta la sensibilidad diagnóstica, particularmente en poblaciones con baja prevalencia de caries. Identificar estas lesiones en etapas iniciales permite al profesional tomar decisiones clínicas más precisas para cada caso y representa una oportunidad crítica para implementar estrategias oportunas de remineralización y prevenir su progresión hacia etapas más avanzadas y cavitada. [94,96].

3.6.2 Uso de radiografías y métodos novedosos

Las radiografías dentales, en especial las de tipo aleta de mordida son de gran ayuda para encontrar lesiones que no siempre son visibles durante una inspección convencional, ya sea en esmalte o en dentina. Este tipo de radiografía aumenta la detección de caries en superficies interproximales y, además, identifica restauraciones defectuosas que podrían pasar inadvertidas clínicamente en un examen visual [97].

En la búsqueda de técnicas que permitan un diagnóstico más temprano y preciso, se han desarrollado diversos métodos novedosos basados en fluorescencia láser (como DIAGNOdent®), transiluminación con fibra óptica, conductividad eléctrica y fluorescencia inducida por luz cuantitativa. Aunque se han observado resultados positivos, aún se requieren mayores estudios de validación comparando estas técnicas con métodos convencionales para confirmar su precisión diagnóstica y respaldar su implementación rutinaria en la práctica clínica [98].

3.7 Riesgo a caries

El riesgo de caries se define como la probabilidad de que aparezcan o progresen lesiones cariosas cuando las condiciones que las favorecen se mantienen inalteradas durante un periodo determinado [8]. Este concepto está estrechamente vinculado con un enfoque de manejo de la caries para reducir la incidencia de la enfermedad. Para lograrlo, se han implementado diversas estrategias de **Evaluación del Riesgo de Caries (CRA**, por sus siglas en inglés) basadas en evidencia científica [99]. Los modelos multivariados son considerados los más adecuados para la práctica clínica, puesto que ofrecen una visión más completa que aquellos centrados en un único factor de riesgo [100].

A partir de la década de 2000, han surgido modelos estandarizados que evalúan distintos factores de riesgo y factores protectores para estimar el riesgo de desarrollar caries [101,102]. Dichos modelos pueden funcionar mediante algoritmos en software o cuestionarios estandarizados [99]. La CRA mejora la práctica profesional y la toma de decisiones en el manejo de la caries, incluyendo la planeación de consultas control basadas en el riesgo individual [102]. La exactitud de estos modelos varía, mostrando una precisión de moderada a buena en el caso de CTI, aunque menor en niños mayores, adolescentes y adultos [99,103].

Para evaluar el riesgo en niños menores de 6 años, se han desarrollado herramientas como el *Cariogram*, el *Dundee Caries Risk Assessment Model (DCRAM)* y *MySmileBuddy*. Otros modelos, dirigidos a niños mayores de 6 años, adolescentes y adultos, incluyen el *Cariogram*, el *Caries Management by Risk Assessment (CAMBRA)*, la *Caries Risk Tool (CAT)*, *PreViser*, *Caries Risk Pyramid*, la herramienta de riesgo de caries de la *American Dental Association (ADA)* y el modelo de la *American Association*

of *Pediatric Dentistry (AAPD)*. Además, para cualquier edad, *CariesCare International (CCI)* propone un modelo de evaluación de riesgo derivado de un consenso al integrar conceptos del Cariogram, CAMBRA y otros [100,102,104].

En términos generales, estos sistemas consideran factores socioeconómicos, estado de salud general, cooperación del paciente, dieta, higiene bucal y factores clínicos (entre ellos, la saliva) [99,100]. No obstante, la evaluación salival suele limitarse a medir el flujo de saliva en la mayoría de los casos, y solo Cariogram valora la capacidad buffer, sin una evaluación específica de CA VI.

3.8 Impacto de la caries

Las repercusiones de la caries van más allá de los síntomas físicos, ya que también alteran la calidad de vida de los niños, puede afectar en su autoestima, conllevar a maloclusiones y afecta su sueño, aumentando la ansiedad ante visitas médicas de emergencia y reduciendo su asistencia escolar, lo que impacta negativamente en su aprendizaje y desarrollo [105,106].

En niños pequeños, la caries severa puede generar dolor intenso que limita la ingesta de alimentos, afectando el metabolismo, el crecimiento, desarrollo psicosocial y psicomotor. Además, el estrés derivado de esta condición incrementa la producción de cortisol, lo que altera el sueño y puede comprometer la salud en general [106,107]. A nivel social, la caries en la dentición temporal es un indicador de problemas de salud bucal en la adultez y se asocia con enfermedades crónicas no transmisibles. Por ello, es fundamental establecer estrategias de prevención, promoción de la salud bucodental, y detección temprana de factores de riesgo a esta enfermedad [108,109].

4. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Fernley *et al.*, 1995, en Australia, desarrollaron un radioinmunoanálisis específico para cuantificar la concentración de CA VI en saliva parotídea en 50 adultos sanos de 20 a 56 años, utilizando copas Carlson-Crittenden para la recolección salival. La concentración de CA VI mostró una amplia variabilidad, con valores que oscilaron entre 9.7 y 121 µg/ml y un promedio de 47.0 ± 39.2 µg/ml, representando aproximadamente el 3% del total de proteínas en saliva parotídea. Aunque esta metodología específica no se ha replicado en estudios posteriores, su contribución es significativa ya que estableció las bases para futuras investigaciones sobre la cuantificación de CA VI en saliva parotídea y permitió estimar su proporción respecto al total de proteínas salivales[66].

Kivelä *et al.*, 1999, en Finlandia, realizaron un estudio transversal en 209 adultos jóvenes sanos de 18 a 24 años para evaluar la relación entre la concentración de CA VI en saliva total y la prevalencia de caries, mediante un examen clínico utilizando el índice DMFT (dientes permanentes cariados, perdidos y obturados). La concentración salival de CA VI fue cuantificada utilizando el inmunoensayo fluorométrico con resolución temporal. Encontraron una correlación negativa significativa entre la concentración de CA VI y la prevalencia de caries, indicando que una baja concentración de CA VI se asoció con mayor índice de caries. No se observó correlación significativa entre la concentración de CA VI y los conteos de *Lactobacillus sp* y *Streptococcus mutans* [90].

Picco *et al.*, 2017, en Brasil, realizaron un estudio en 74 niños de edad escolar divididos en dos grupos según la presencia o ausencia de caries, determinada mediante el índice clínico ceod. Se evaluó la concentración y actividad de CA VI en saliva, flujo salival, pH y capacidad buffer. La concentración salival de CA VI fue cuantificada

mediante la técnica de ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas). Encontraron que los niños con caries presentaban una actividad significativamente mayor de CA VI, mientras que la concentración era mayor en el grupo libre de caries. Observaron que una mayor concentración de CA VI, junto con un pH más elevado y una mayor capacidad buffer, se asociaron con una menor actividad de esta isoenzima en el grupo libre de caries [110].

Picco *et al.*, 2019, en Brasil, llevaron a cabo un estudio en 74 niños de 7 a 9 años, divididos en grupos con y sin caries, el cual fue evaluado clínicamente usando el índice ceod. Se determinó el pH, concentración y actividad de CA VI en el biofilm. La concentración de CA VI en el biofilm fue determinada mediante ELISA, mientras que la actividad se evaluó mediante zimografía. Se determinó que la actividad de CA VI fue significativamente mayor en el biofilm de niños con caries, mientras que la concentración de CA VI y el pH del biofilm fue menor [111].

Piekoszewska-Ziętek *et al.*, 2020, en Polonia, investigaron polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en el gen de la CA VI en 130 adolescentes de 11 a 16 años y su relación con caries activa, evaluada clínicamente mediante el índice CPOD/CPOS (sumatoria de superficies permanentes cariadas, perdidas y obturadas) y lesiones de mancha blanca, así como las propiedades fisicoquímicas salivales. La concentración salival de CA VI fue cuantificada utilizando ELISA. Encontraron que la concentración media de CA VI fue significativamente menor en el grupo con caries activa en comparación con el grupo libre de caries. Aunque se observaron relaciones significativas entre algunos SNPs del gen CA VI y propiedades salivales como la capacidad amortiguadora y la tasa de flujo salival, no hubo asociación directa entre estos polimorfismos y el riesgo de caries [112].

Vasudevan *et al.*, 2022, en India, realizaron un estudio de casos y controles en 60 niños de 6 a 12 años para evaluar las concentraciones de CA VI, proteínas totales y antioxidantes en saliva en grupos de caries activos y caries libres, evaluados mediante el índice CPOD/ceod. Encontraron que la concentración de CA VI fue significativamente mayor en niños con caries activa, siendo este el único estudio hasta la fecha que ha reportado tal hallazgo. También observaron niveles elevados de antioxidantes como el ácido úrico, el superóxido dismutasa y la peroxidasa lipídica en este grupo. Estos resultados sugieren que las variaciones en CA VI y los antioxidantes salivales podrían ser marcadores útiles del estado cariogénico en niños [113].

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La caries dental constituye un problema de salud pública a nivel mundial, y es una de las enfermedades más prevalentes según el informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2022. En México, datos del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) reportaron que, en 2023, el 72.2% de los niños de 2 a 5 años presentaban caries dental, lo que representa un aumento significativo respecto a los registros de 2009.

El incremento en la prevalencia de caries en la población infantil mexicana durante los últimos 13 años refleja la persistencia de este problema, que puede tener consecuencias significativas en la salud bucal y a nivel sistémico. La caries provoca dolor espontáneo y persistente, que puede evolucionar hacia infecciones graves. Además, su aparición en edades tempranas aumenta el riesgo de padecerla a lo largo de la vida, lo que perpetúa su impacto negativo sobre el bienestar y la calidad de vida de las personas.

Para evaluar el riesgo de caries, existen métodos como los cuestionarios CAMBRA y CARIOGRAM, que consideran hábitos, factores extrínsecos e intrínsecos, así como parámetros salivales básicos como el pH y el flujo salival. Sin embargo, esta evaluación resulta limitada, ya que dichos parámetros no representan de forma integral la función de la saliva ni su papel protector frente al proceso cariogénico.

La enzima salival anhidrasa carbónica VI desempeña un papel fundamental en la amortiguación de ácidos, lo que la convierte en un componente clave en la defensa contra el proceso carioso. No obstante, a pesar de su relevancia, las funciones salivales específicas como esta no se evalúan de manera rutinaria. Limitar la valoración salival

únicamente al pH y al flujo puede generar errores en la estimación del riesgo real de caries, ya que estos parámetros son variables y pueden alterarse por factores como el estado de hidratación, la ingesta reciente de alimentos o el estrés. La alteración en la actividad de la anhidrasa carbónica VI podría reflejar una mayor susceptibilidad del huésped a una progresión rápida del proceso cariogénico.

6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

¿Cuál es la asociación entre la cantidad de Anhidrasa Carbónica VI salival y la severidad de caries según ICDAS en niños de Odontopediatría de la FEBUAP?

7. JUSTIFICACIÓN

La anhidrasa carbónica VI (CA VI) cumple una función amortiguadora en la saliva al favorecer la producción de bicarbonato en situaciones de estrés ácido en la cavidad bucal. Estudios previos han demostrado que una menor concentración de CA VI en saliva total se asocia con la presencia de caries. Sin embargo, su cantidad no ha sido suficientemente estudiada en relación con los distintos estadios de severidad de la lesión cariosa en población pediátrica, utilizando los criterios del sistema ICDAS.

La identificación de diferencias en la cantidad de CA VI podría ofrecer una visión más completa sobre la composición salival y el riesgo de caries a nivel individual. Comparar estos niveles entre los distintos grados de severidad permitirá comprender mejor el funcionamiento del principal mecanismo de defensa salival frente a la progresión de la enfermedad. Esta información tendrá un valor predictivo importante en la evaluación del riesgo de caries, facilitando el desarrollo de modelos preventivos enfocados en evitar la aparición de nuevas lesiones, controlar su avance y prevenir su recurrencia.

A mediano y largo plazo, podría desarrollarse un sistema integral de análisis funcional salival basado en la medición de CA VI. Su evaluación rápida tendría aplicaciones a nivel de salud pública para identificar a individuos con mayor susceptibilidad al rápido desarrollo de caries.

8. HIPÓTESIS

8.1 Hipótesis científica (Hi):

La cantidad de Anhidrasa Carbónica VI salival se asocia a la severidad de caries.

8.2 Hipótesis nula (Ho):

La cantidad de Anhidrasa Carbónica VI salival no se asocia a la severidad de caries.

9. OBJETIVOS

9.1 Objetivo general

Evaluar la asociación de la cantidad de anhidrasa carbónica VI en saliva glandular con los distintos estadios de severidad de caries, según el sistema ICDAS, en niños de 3 a 7 años atendidos en la Clínica de Estomatología Pediátrica de la FEBUAP.

9.2 Objetivos particulares o específicos

- Determinar estadios de severidad de caries a través de ICDAS.
- Determinar el pH salival y capacidad buffer de la saliva total.
- Determinar la cantidad de Anhidrasa Carbónica VI de la saliva glandular.
- Correlacionar los estadios de severidad de caries con las variables independientes;
 - a. Cantidad de anhidrasa carbónica VI
 - b. pH de salival obtenido con tiras reactivas
 - c. pH de saliva obtenido con potenciómetro
 - d. Capacidad buffer salival
 - e. Edad
 - f. Sexo
- Calcular Odds Ratio
- Aplicar un modelo de regresión logística ordinal entre la severidad de caries dental y las variables salivales: pH (potenciómetro y tira), concentración de CA VI y capacidad buffer.

10. MATERIALES Y MÉTODOS

10.1 Diseño del estudio

Transversal, analítico prolectivo.

10.2 Población y muestra

Universo de estudio: Pacientes de la Clínica de Estomatología Pediátrica del Posgrado de la FEBUAP que cumplan con los criterios de selección.

Tamaño de la muestra: No probabilístico por conveniencia en un periodo de noviembre 2023 a diciembre 2024 de aquellos individuos que cumplan con los criterios de inclusión.

10.3 Criterios de selección

10.3.1 Criterios de Inclusión:

1. Niños y niñas de 3 a 7 años que acuden a la Clínica de Estomatología Pediátrica de la Maestría en Estomatología de la FEBUAP.
2. Niños y niñas cuyos padres después de haber obtenido información del proyecto de investigación hayan firmado el consentimiento informado.
3. Niños y niñas que acuden al odontopediatra sin tratamientos dentales previos, ni aparatología ortopédica.
4. Niños y niñas sin compromiso médico importante.
5. Niños y niñas de cualquier sexo.

10.3.2 Criterios de Exclusión:

1. Niños y niñas con aplicación de fluoruro en los últimos 3 meses.
2. Niños y niñas con alguna exposición reciente a algún medicamento que altere las propiedades salivales (Los últimos 3 meses).
 - a. Antihistamínicos, diuréticos, anticolinérgicos, simpaticomiméticos, antihipertensivos, descongestionantes, broncodilatadores, opioides, entre otros.
3. Niños y niñas con trastornos de las glándulas salivales o sin glándulas salivales.

10.3.3 Criterios de Eliminación

1. Niños y niñas que no muestren cooperación en la toma de muestra salival.
2. Niños y niñas de los cuales no se obtenga más de 100 µL de saliva de alguna de las muestras.

10.4 VARIABLES

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA	CATEGORIA
Severidad de lesión de caries	Es el estadio del progreso de la lesión según la pérdida mineral, desde la pérdida inicial a nivel molecular hasta la destrucción tisular total.	Identificación del grado de afección de tejidos duros dentales a partir de la evaluación de ICDAS.	Ordinal.	1. Sano: Sujeto evaluado en el que todos los órganos dentales tienen código ICDAS 0. 2. Lesiones de caries en esmalte: Sujeto evaluado en el que el código más alto es de ICDAS 1-2. 3. Lesiones de caries en dentina: Sujeto evaluado en el que al menos tiene una lesión en dentina con código ICDAS 3-6.
VARIABLES INDEPENDIENTES				
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento.	Recopilación del número de la edad que refiere el padre o tutor en la historia clínica.	Cuantitativa, discreta.	Años.
Sexo	Condición orgánica que distingue a los hombres de las mujeres.	Identificación del sexo por familiar a cargo.	Cualitativa, nominal, dicotómica.	Hombre/Mujer
pH salival Potenciómetro	Medida que indica la concentración de iones hidrógeno (H ⁺) en la saliva, expresada en la escala de pH.	Recopilación del número proporcionado por el potenciómetro.	Cuantitativa continua.	pH 0-14
pH salival (tiras reactivas)	Medida que indica la concentración de iones hidrógeno (H ⁺) en la saliva, expresada en la escala de pH.	De acuerdo a las indicaciones del fabricante del kit <i>GC Saliva Check buffer kits</i> ; se sumergirá la tira reactiva en la muestra de saliva. El valor de pH será determinado comparando el color obtenido con la escala de referencia	Cuantitativa continua.	Los valores de pH posibles son 5.0, 5.2, 5.4, 5.6, 5.8, 6.0, 6.2, 6.4, 6.6, 6.8, 7.0, 7.2, 7.4, 7.6 y 7.8 sin valores intermedios.

		proporcionada en el empaque del kit.		
Aplicar un modelo de regresión logística ordinal para evaluar la asociación entre la severidad de caries dental y las variables salivales: pH (potenciómetro y tira), concentración de CA VI y capacidad buffer.	Capacidad de la saliva de amortiguar las variaciones de pH.	De acuerdo a las indicaciones del fabricante del kit <i>GC Saliva Check buffer kits</i> ; Es la suma de los números tomando de referencia la tabla del kit, indicados por el color final de cada almohadilla. El valor total corresponderá a la capacidad buffer salival.	Dimensional discreta.	0-12.
Cantidad de CA VI	Concentración de esta enzima presente en la saliva glandular.	Se determinó siguiendo las indicaciones del fabricante del kit el método de Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA para CA VI)	Cuantitativa, continua.	Nanogramos por mililitro (ng/mL)

10.5 CONCORDANCIA Y FIABILIDAD

a) Severidad de caries con respecto a ICDAS

El investigador fue capacitado por un experto, quien actuó como estándar de referencia en la aplicación del sistema ICDAS para evaluar la severidad de las lesiones de caries. Posteriormente, se realizó una prueba piloto que incluyó la evaluación de pacientes.

La fase de estandarización inició con la evaluación intraobservador, destinada a medir la consistencia del investigador consigo mismo, seguida de la evaluación interobservador, para analizar la concordancia entre las evaluaciones del investigador y del experto.

Para determinar la reproducibilidad y concordancia de las evaluaciones, se utilizaron herramientas estadísticas como el Coeficiente de Correlación Intraclass (CCI) para las mediciones cuantitativas y el Índice Kappa de Cohen para las variables cualitativas **(Anexo 1)**.

b) Cantidad de CA VI:

El investigador fue capacitado por un experto en el manejo del equipo lector fotómetro para microplacas **Multiscan FC™**, utilizado para la determinación de la cantidad de CA VI. La capacitación abarcó el uso adecuado del equipo, el cual se encontraba previamente calibrado para garantizar la precisión de las mediciones.

Durante este proceso, se realizaron pruebas piloto con sustancias de diluciones controladas, diseñadas específicamente para evaluar y optimizar las habilidades del investigador en la obtención de mediciones confiables y reproducibles.

c) Potenciómetro para lectura de pH de saliva total

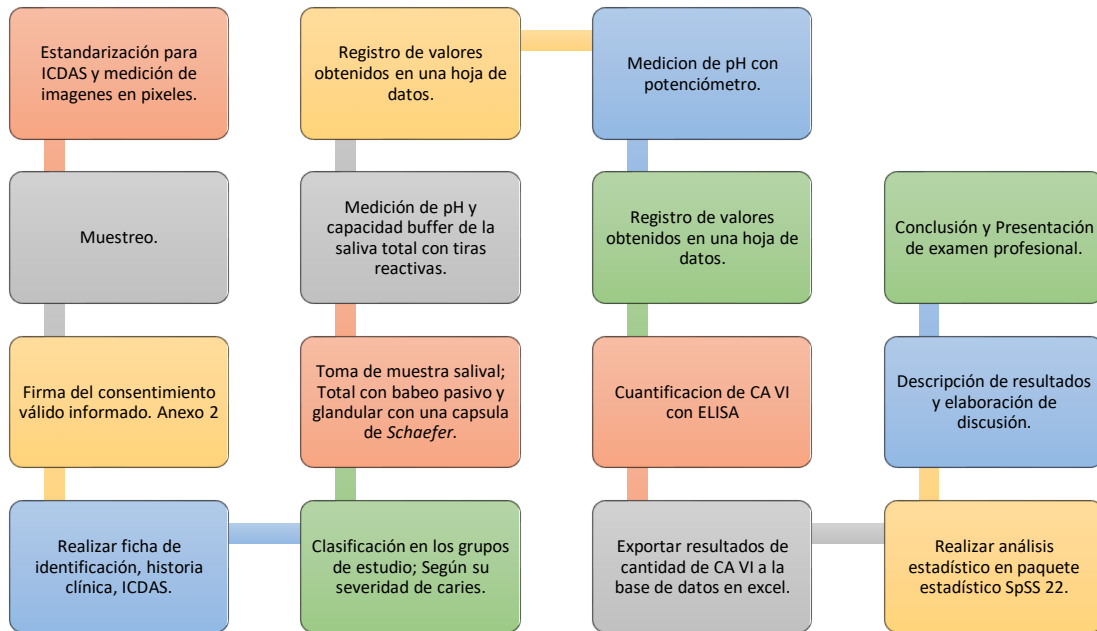
El potenciómetro para la lectura de pH salival fue previamente calibrado con soluciones buffer a un pH de 4.01 y 7.01, incluidas por el fabricante.

10.6 UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL

Clínica del Posgrado en Estomatología Pediátrica de la FEBUAP.

Laboratorio de Microbiología Oral, Facultad de Estomatología, BUAP.

10.7 DIAGRAMA DE FLUJO



10.8 PROCEDIMIENTOS, TÉCNICAS Y FUENTES DE RECOLECCIÓN

A cada paciente se le realizó una historia clínica detallada, que incluyó el llenado de un formato diseñado específicamente para este estudio. Dicho formato recopiló información sobre datos personales, antecedentes heredofamiliares, examen clínico extraoral e intraoral, así como la evaluación de lesiones de caries (**Anexo 3**).

10.8.1 Evaluación de lesiones de caries:

La exploración clínica e intraoral se realizó cumpliendo estrictamente con las recomendaciones de bioseguridad para prevenir infecciones cruzadas. Se incluyó el uso de barreras de protección para el personal operador, la desinfección y protección de las superficies del área de trabajo, así como el empleo de instrumental estéril para cada evaluación.

Se utilizó el sistema ICDAS para determinar la severidad de las lesiones de caries [96]. Este sistema permitió la evaluación de lesiones iniciales no cavitadas y lesiones cavitadas, lo que garantizó un diagnóstico más preciso.

Tras la estandarización intra e interobservador por un experto en el sistema ICDAS, se llenó el formato diseñado para este estudio.

Protocolo de evaluación:

1. Condiciones de la evaluación:

- Se evaluó a los niños en un sillón dental con iluminación adecuada proporcionada por la unidad dental.
- Antes de la exploración, se removió el biofilm de los órganos dentales utilizando una gasa y una sonda periodontal.

2. Procedimiento de exploración:

- Se evaluaron primero todas las superficies húmedas de cada órgano dental y luego las superficies secas, tras secarlas durante 5 segundos con una jeringa triple.
- La evaluación se realizó de manera visual y táctil, con un espejo intraoral y una sonda periodontal de punta roma.
- Se siguió un orden sistemático en la exploración, comenzando por las piezas del primer cuadrante, seguido del segundo, tercero y finalmente el cuarto cuadrante.
- Se evaluó cada diente en todas sus superficies y se le asignó el código correspondiente a la superficie con mayor gravedad registrada.

3. Criterios de codificación según ICDAS: [119]

- **Código 0:** Sin signos de lesión de caries tras secar la superficie por 5 segundos.
- **Código 1:** Opacidad o decoloración blanca o marrón visible tras secar con aire, sin signos en la superficie húmeda.
- **Código 2:** Mancha blanca o marrón visible en esmalte húmedo.

- **Código 3:** Mancha blanca o marrón en superficie húmeda con microcavidad en esmalte (<0.5 mm).
- **Código 4:** Sombra oscura visible a través del esmalte húmedo, con o sin microcavidad.
- **Código 5:** Cavidad franca entre 0.5-1 mm con exposición de dentina.
- **Código 6:** Cavitación extensa con exposición de dentina, que abarcó al menos la mitad de la superficie examinada.

Clasificación de severidad:

Al finalizar la evaluación de todos los dientes, cada sujeto fue clasificado según la severidad de sus lesiones de caries con base en los datos obtenidos del ICDAS, siguiendo los criterios reportados en el estudio transversal de Lara J. et al. sobre el impacto de la severidad de caries en la calidad de vida: [37]

- **Sujeto sano:** Sin lesiones de caries (ICDAS 0).
- **Sujeto con lesiones de caries solo en esmalte:** Lesiones ICDAS 1-2.
- **Sujeto con al menos una lesión de caries en dentina:** Lesiones ICDAS 3-6.

Esta clasificación se registró en el formato del estudio para asignar a cada sujeto a una de las tres categorías de severidad. Esto permitió asociar la cantidad de CA VI con la severidad de las lesiones de cada sujeto.

10.8.2 Recolección de muestras de saliva:

Una vez registrada la severidad de caries del paciente se le solicitó acudir en otra ocasión, con un ayuno mínimo de 1 hora de cualquier alimento o bebida, así como con un cepillado dental sin pasta dental y sin uso de enjuague bucal previo a la toma de la muestra. Las muestras de saliva fueron tomadas en un horario entre las **9:00 y 11:00 a.m.** por un solo examinador.

Colección de saliva total no estimulada

Se proporcionó al paciente información detallada sobre el procedimiento para la toma de muestra de saliva. Se le indicó inclinar la cabeza hacia adelante, mantener el menor movimiento posible, abrir la boca y permitir que la saliva escurriera en un cono estéril conectado a un tubo estéril tipo Eppendorf.

La recolección de la muestra se llevó a cabo durante un mínimo de 5 minutos, asegurando obtener al menos 100 µL de saliva (**Fig. 1 y 2**). Una vez recolectada, el tubo fue cerrado para su transporte al laboratorio de **Microbiología Oral de la FEBUAP**.

La muestra fue transportada en un recipiente térmico, con temperatura controlada entre 4 y 10 °C, y el tiempo de transporte no excedió una hora. Al llegar al laboratorio, fue congelada a una temperatura de -80 °C para su posterior procesamiento [120–122].



Fig. 1 Colección de las muestras de saliva por un solo investigador.



Fig. 2 Obtención de saliva total por medio de un cono estéril para muestreo salival.

Colección de saliva de la glándula parótida:

Se recolectó saliva no estimulada de la glándula parótida utilizando un dispositivo plástico intraoral modificado, apto para niños y diseñado para la colección de saliva parotídea [123]. Antes del procedimiento, se proporcionaron instrucciones claras al paciente. Se le indicó permanecer sentado en posición erguida, con la mandíbula relajada y sin hablar durante la recolección de la muestra.

Procedimiento de recolección:

1. Se identificó el conducto de Stenon en el carrillo, a la altura del segundo molar temporal o del primer molar permanente superior.
2. Se secó la mucosa bucal circundante con una gasa y se colocó el dispositivo plástico intraoral, asegurando que la abertura quedara alineada con la papila del conducto de Stenon.

3. Se aplicó una ligera presión contra el carrillo para generar presión negativa, facilitando la adhesión del dispositivo a la mucosa oral (**Fig.3**).
4. Una vez recolectado un volumen aproximado de 100 μ L de saliva en un tiempo estimado de 5 a 10 minutos, se retiró la cápsula con cuidado (**Fig. 4**).
5. El contenido recolectado se transfirió a un tubo estéril tipo Eppendorf de 1.5 mL, utilizando una pipeta de 200 μ L con puntas estériles.
6. La muestra de saliva fue transportada al Laboratorio de Microbiología Oral de la FEBUAP en un recipiente térmico, manteniendo una temperatura entre 4 y 10°C. El tiempo de transporte no superó 4 horas, tras lo cual la muestra fue congelada a -80 °C para su posterior procesamiento [123].



Fig. 3 Adhesión del dispositivo plástico por medio de presión negativa.

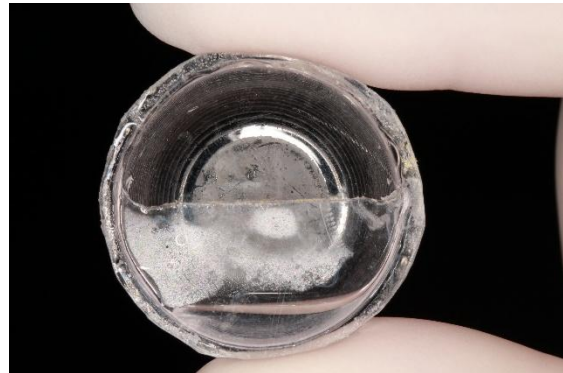


Fig. 4 Muestra de saliva de glándula parotida.

10.8.3 Pruebas salivales:

Para realizar las pruebas salivales, las muestras de saliva total fueron descongeladas a temperatura ambiente durante un tiempo aproximado de 10 a 30 minutos.

pH Salival con Potenciómetro de Saliva Total

Se empleó un potenciómetro siguiendo las instrucciones del fabricante, las cuales fueron las siguientes:

Calibración del instrumento:

- Se realizó la calibración diaria del potenciómetro antes de cada medición de pH.
- Utilizando dos soluciones estándar proporcionadas por el fabricante, con pH 4.01 y 7.01.
- Se programó el potenciómetro para iniciar el proceso de calibración (**Fig.5**).
- La punta del electrodo se lavó con agua destilada durante 15 segundos y posteriormente se introdujo en la solución de pH 4.01 hasta que el dispositivo indicó la finalización de la calibración (**Fig.6**).
- Luego, la punta se lavó nuevamente con agua bidestilada y se sumergió en la solución de pH 7.01, completando así la segunda calibración (**Fig.7**).



Fig. 5 Calibración del potenciómetro HANNA®.



Fig. 6 Calibración con Buffer pH 4.01.

Medición del pH de la saliva:

- Antes de la medición, se lavó la punta del electrodo del potenciómetro con agua bidestilada para garantizar su limpieza.
- A continuación, el electrodo se sumergió en la muestra de saliva total a analizar.
- El pH de la muestra fue medido directamente y se registró el valor estable mostrado en la pantalla del dispositivo (**Fig. 8**).



Fig. 7 Calibración con Buffer pH 7.01.



Fig. 8 Medición de pH de la muestra de saliva total .

Registro:

El valor obtenido fue anotado en el instrumento de recolección de datos correspondiente.

pH con Tira Reactiva de Saliva Total

Se utilizó las tiras reactivas del kit de GC Saliva Check Buffer® (GC,Tokyo,Japan), se siguió las indicaciones del fabricante, que son las siguientes: [124]

- Se tomó una tira del test pH y se colocó dentro del tupo de Eppendorf que contenía la muestra de saliva total durante 10 segundos (**Fig.9-12**).

- Tras este tiempo, la tira presentó un cambio de color, el cual se comparó con la tabla de referencia incluida en el kit para determinar el pH de la muestra (**Fig.13**).



Fig. 9 Producto de GC Saliva Check Buffer® (GC, Tokyo, Japan)

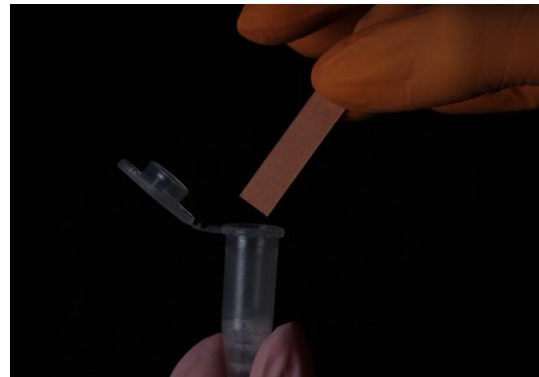


Fig. 10 Coloración de la tira reactiva previo a la medición de pH.

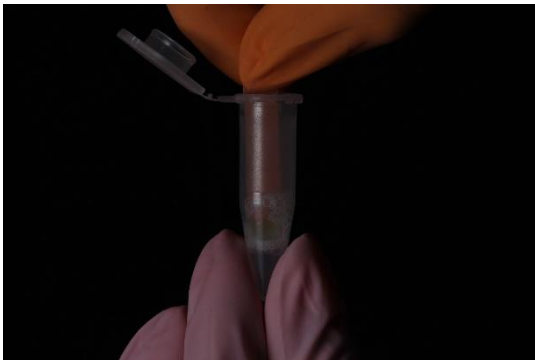


Fig. 11 Cambio de coloración de la tira tras su inmersión en saliva total.

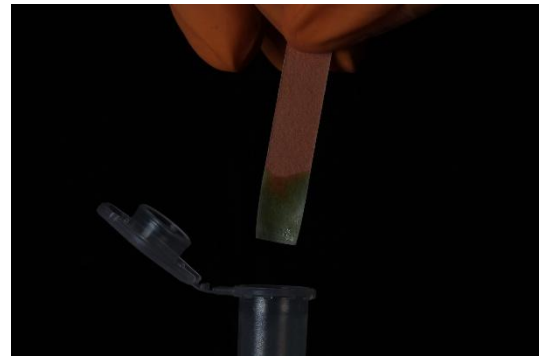


Fig. 12 El color de la tira dependerá del pH en la muestra.

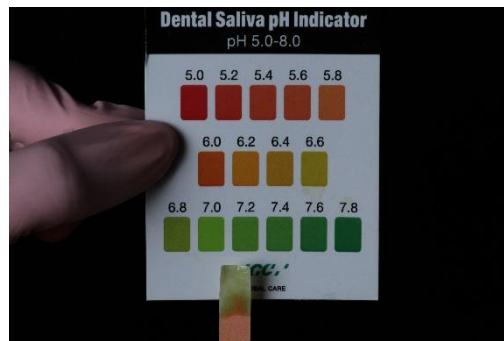


Fig. 13 Comparación del color con la tabla de referencia.

Capacidad buffer salival

Se utilizó el **kit GC Saliva Check Buffer®** (GC, Tokyo, Japón) de acuerdo con las indicaciones del fabricante, las cuales fueron las siguientes: [124]

Primero, se colocó la tira reactiva sobre una hoja de papel absorbente. Con una pipeta, se depositó una gota de saliva en cada una de las tres almohadillas de prueba de la tira. Inmediatamente, se giró 90 grados para remover el exceso de saliva (**Figs. 14-17**).

El color de la tira reactiva cambió de inmediato y, tras 2 minutos, se obtuvo el resultado final (**Fig. 18**). Este se calculó sumando los puntos correspondientes según el color final de cada almohadilla. La valoración se realizó con base en la tabla de conversión de colores proporcionada en el kit [125].

1. **Verde**: 4 puntos
2. **Verde/azul**: 3 puntos
3. **Azul**: 2 puntos
4. **Rojo/azul**: 1 punto
5. **Rojo**: 0 puntos

En caso de que alguna combinación de los colores de la tira tuvo un resultado poco claro, se utilizó puntuaciones intermedias.

Se interpretó por medio de la suma de los puntos de la tabla del kit, cada valor corresponderá la capacidad buffer salival: (Fig. 18,19)

- **Muy baja**= 0-5
- **Baja**= 6-9
- **Normal/alto**= 10-12



Fig. 14 Uso del Kit Saliva Check Buffer®



Fig. 15 Tira de prueba de evaluación de capacidad buffer.



Fig. 16 Toma de muestra de saliva entre 150-180 μ L.

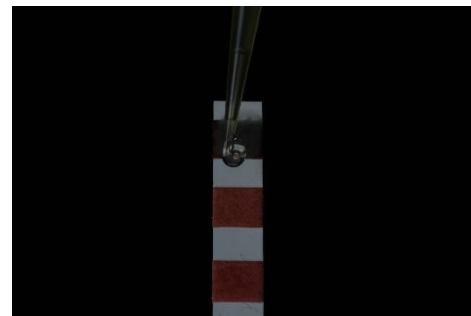
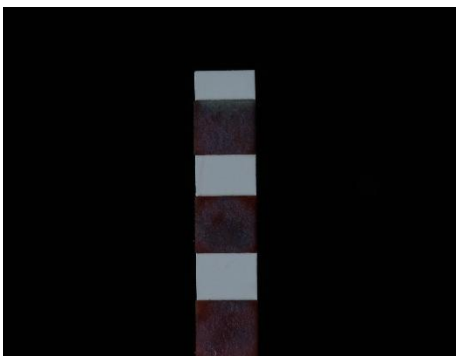


Fig. 17 Colocación de una gota de saliva por almohadilla.



almohadilla posterior a 100 μ L.

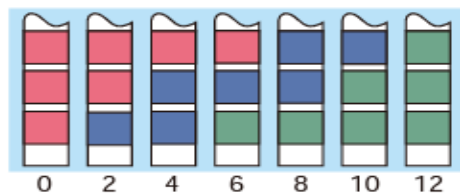


Fig. 19 Ejemplificación del cambio de color que se puede presentar en cada almohadilla.

Cantidad de anhidrasa carbónica VI

La cuantificación de CA VI se realizó por medio de **ELISA (ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas)** es una técnica bioquímica para detectar y cuantificar proteínas, antígenos, anticuerpos y enzimas de muestras biológicas. Este ensayo se basa en una reacción específica de antígeno-anticuerpo que utiliza una enzima conjugada para generar un cambio de color, que este es medible mediante espectrofotometría.

Principio del ensayo ELISA

El ensayo ELISA para la anhidrasa carbónica VI (CA VI) se basa en el método sándwich en el que utiliza una placa precubierta con un anticuerpo específico contra CA VI, el cual permite la captura de la enzima presente en la muestra de saliva.

Tras la adición de la muestra, CA VI es reconocida y capturada por el anticuerpo en la placa. Luego, un anticuerpo anti-CA VI biotinilado se une específicamente a la enzima diana. Posteriormente, al agregar avidina conjugada con peroxidasa de rábano (HRP) se adhiere a la biotina del anticuerpo, formando un complejo de detección.

La adición de la solución sustrato TMB (3,3',5,5'-Tetrametilbencidina) provoca un cambio de color azul, cuya intensidad es proporcional a la cantidad de CA VI presente en la muestra. La reacción enzima-sustrato se detiene con la adición de ácido sulfúrico, cambiando el color de azul a amarillo, lo que permite la lectura de la densidad óptica (DO) mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 450 ± 10 nm. La concentración de CA VI en las muestras se determina comparando su DO con una curva estándar [126].

Sensibilidad y precisión del ensayo ELISA

El ensayo ELISA para CA VI ofrece una alta sensibilidad y especificidad, con un límite de detección mínimo inferior a 0.29 ng/mL, según lo reportado por el fabricante.

Además, presenta una alta precisión en las mediciones, con coeficientes de variación (CV) que indican su reproducibilidad y confiabilidad:

- **Precisión intra-ensayo:** CV <10%, lo que garantiza alta reproducibilidad dentro de una misma placa ELISA.
- **Precisión inter-ensayo:** CV <12%, lo que demuestra consistencia y confiabilidad entre diferentes placas y condiciones experimentales [126].

Proceso de cuantificación de CA VI con ELISA:

Se siguieron las instrucciones del fabricante Cloud-Clone Corp.® SED07Hu del kit de ELISA para Anhidrasa Carbónica 6 Homo Sapiens de 96 exámenes con No. de Serie: E96P39A426

Primero se dejaron a descongelar a temperatura ambiente las muestras de saliva glandular.

Preparación de las muestras de saliva glandular:

Las muestras de saliva glandular se prepararon a una dilución 1:20.

- En una placa ELISA de 96 pocillos, limpia y sin recubrimiento previo, se depositaron 20 µL de muestra de saliva en cada pocillo utilizando una pipeta con punta estéril para cada muestra.

- Se agregaron 180 μL de PBS (0.01 mol/L, pH 7-7.2) en cada pocillo con una pipeta multicanal. Se mezcló con la muestra de saliva dentro de cada pocillo, cambiando las puntas entre cada fila para evitar contaminación cruzada.

Preparación de reactivos:

Se sacó el kit de ELISA que se encontraba a -20°C , para que los reactivos obtuvieran una temperatura ambiente de 18°C previo a su uso.

1. Preparación de estándar:

El estándar se reconstituyó agregando 0.5 mL de diluyente estándar, asegurando una mezcla homogénea sin formación de burbujas.

- En el primer tubo Eppendorf se agregó 250 μL sin diluyente estándar.
- Se prepararon 7 tubos Eppendorf con 0.25 mL de diluyente estándar.
- Se agregó 250 μL de estándar en el primer tubo Eppendorf y se mezcló con los 0.25 mL que contenía.
- A partir del primer tubo, se tomaron 250 μL y se transfirieron al segundo tubo, repitiendo este proceso en los tubos siguientes para generar diluciones en serie (1:2) en cada transferencia. El último tubo Eppendorf no se diluyó y se utilizó como solución blanco (**Fig.20**).

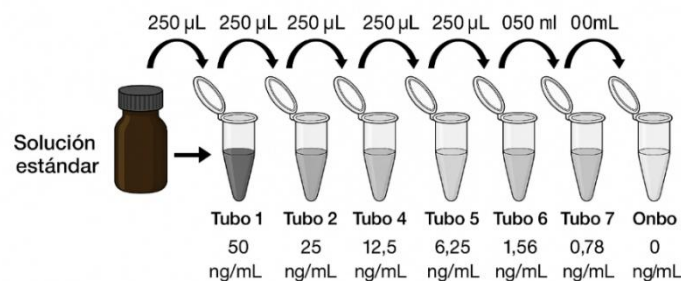


Fig. 20 Ejemplificación de las diluciones en serie de la solución estándar.

2. Reactivo de detección A & B

- Se centrifugo el reactivo de detección A & B brevemente.
- Cada reactivo se diluyó a una concentración de trabajo de 1:100 utilizando el diluyente de ensayo correspondiente:
 - Se añadieron 100 μ L del reactivo de detección A en un tubo de ensayo de 10 mL, completando el volumen con 9.9 mL de diluyente de ensayo A.
 - Se añadieron 100 μ L del reactivo de detección B en un tubo de ensayo de 10 mL, completando el volumen con 9.9 mL de diluyente de ensayo B.

3. Solución de lavado

- Se diluyeron 20mL de solución de lavado concentrada (30x) con 580 mL de agua bidestilada, obteniendo un volumen total de 600 mL de solución de lavado.

Procesado de las muestras con ELISA

1. Preparación de la placa ELISA

Se determinó los pocillos de la placa ELISA de 96 pocillos para la solución estándar, la solución blanco y las muestras de saliva.

- Se depositó 100 μ L de cada dilución de la solución estándar en los primeros siete pocillos con una pipeta multicanal.
- Se añadió 100 μ L de la solución blanco en el pocillo correspondiente.
- Se distribuyó 100 μ L de cada muestra de saliva glandular preparada con PBS en los 88 pocillos restantes, utilizando una pipeta multicanal, cambiando puntas entre filas para evitar contaminación cruzada.

- 14 pocillos con muestras del grupo sano.
- 19 pocillos con muestras del grupo con caries en esmalte.
- 55 pocillos con muestras del grupo con caries en dentina.
- La placa ELISA se cubrió con los selladores de placa e incubó durante 1 hora a 37°C.

2. Registro en el programa

- Se diseñó la distribución de los pocillos en el programa **Skantl RE-6.1.1®** (**Fig.21**), ejecutado en una computadora con las siguientes características mínimas:
 - **Sistema operativo:** Microsoft™ Windows™ 10 (64 bits).
 - **Almacenamiento:** 14 GB de espacio en disco.
 - **Procesador:** Cuatro núcleos.
 - **Memoria RAM:** 8 GB.
 - **Pantalla:** Full HD (1920 x 1080).
 - **Puerto USB disponible.**

Name:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	STANDAR 50 1:1 Group 1	STANDAR 25 1:1 Group 1	STANDAR 12.5 1:1 Group 1	STANDAR 6.25 1:1 Group 1	STANDAR 3.12 1:1 Group 1	STANDAR 1.56 1:1 Group 1	STANDAR 0.78 1:1 Group 1	STANDAR 0 1:1 Group 1	SANO 13 1:1 Group 1	SANO 18 1:1 Group 1	SANO 32 1:1 Group 1	SANO 34 1:1 Group 1
B	SANO 50 1:1 Group 1	SANO 75 1:1 Group 1	SANO 78 1:1 Group 1	SANO 84 1:1 Group 1	SANO 88 1:1 Group 1	SANO 89 1:1 Group 1	SANO 92 1:1 Group 1	SANO 93 1:1 Group 1	SANO 100 1:1 Group 1	SANO 101 1:1 Group 1	ESMALTE 2 1:1 Group 1	ESMALTE 3 1:1 Group 1
C	ESMALTE 5 1:1 Group 1	ESMALTE 9 1:1 Group 1	ESMALTE 14 1:1 Group 1	ESMALTE 15 1:1 Group 1	ESMALTE 17 1:1 Group 1	ESMALTE 49 1:1 Group 1	ESMALTE 53 1:1 Group 1	ESMALTE 60 1:1 Group 1	ESMALTE 62 1:1 Group 1	ESMALTE 70 1:1 Group 1	ESMALTE 80 1:1 Group 1	ESMALTE 81 1:1 Group 1
D	ESMALTE 82 1:1 Group 1	ESMALTE 83 1:1 Group 1	ESMALTE 91 1:1 Group 1	ESMALTE 98 1:1 Group 1	ESMALTE 10 1:1 Group 1	DENTINA 1 1:1 Group 1	DENTINA 4 1:1 Group 1	DENTINA 6 1:1 Group 1	DENTINA 7 1:1 Group 1	DENTINA 8 1:1 Group 1	DENTINA 10 1:1 Group 1	DENTINA 11 1:1 Group 1
E	DENTINA 12 1:1 Group 1	DENTINA 16 1:1 Group 1	DENTINA 19 1:1 Group 1	DENTINA 20 1:1 Group 1	DENTINA 23 1:1 Group 1	DENTINA 24 1:1 Group 1	DENTINA 25 1:1 Group 1	DENTINA 27 1:1 Group 1	DENTINA 28 1:1 Group 1	DENTINA 29 1:1 Group 1	DENTINA 30 1:1 Group 1	DENTINA 31 1:1 Group 1
F	DENTINA 33 1:1 Group 1	DENTINA 35 1:1 Group 1	DENTINA 36 1:1 Group 1	DENTINA 37 1:1 Group 1	DENTINA 38 1:1 Group 1	DENTINA 39 1:1 Group 1	DENTINA 42 1:1 Group 1	DENTINA 44 1:1 Group 1	DENTINA 45 1:1 Group 1	DENTINA 46 1:1 Group 1	DENTINA 47 1:1 Group 1	DENTINA 48 1:1 Group 1
G	DENTINA 51 1:1 Group 1	DENTINA 52 1:1 Group 1	DENTINA 55 1:1 Group 1	DENTINA 57 1:1 Group 1	DENTINA 58 1:1 Group 1	DENTINA 61 1:1 Group 1	DENTINA 66 1:1 Group 1	DENTINA 67 1:1 Group 1	DENTINA 68 1:1 Group 1	DENTINA 69 1:1 Group 1	DENTINA 72 1:1 Group 1	DENTINA 74 1:1 Group 1
H	DENTINA 77 1:1 Group 1	DENTINA 79 1:1 Group 1	DENTINA 85 1:1 Group 1	DENTINA 86 1:1 Group 1	DENTINA 90 1:1 Group 1	DENTINA 94 1:1 Group 1	DENTINA 95 1:1 Group 1	DENTINA 96 1:1 Group 1	DENTINA 99 1:1 Group 1	DENTINA 10 1:1 Group 1	DENTINA 10 1:1 Group 1	DENTINA 10 1:1 Group 1

Fig. 21 Diseño de la placa de 96 pocillos en el programa para su lectura.

3. Transcurrida la incubación, se retiró el líquido de la placa sin realizar lavados.
4. Se añadieron 100 μ L del reactivo de detección A previamente diluido en cada pocillo, se selló nuevamente la placa y se incubó 1 hora a 37°C.
5. Se retiró la solución y se realizó el lavado de la placa con 350 μ L de solución de lavado por pocillo, se dejó reposar 1 minuto antes de remover el líquido volteando la placa sobre papel absorbente.
 - Se repitió el lavado tres veces, se aseguró una correcta eliminación del reactivo y en el último lavado se secó la placa invirtiéndolo sobre papel absorbente.
6. Se agregó 100 μ L del reactivo de detección B a cada pocillo, se selló de nuevo la placa y se incubó 30 minutos a 37°C.

7. Se retiró la solución y se realizó un lavado de cinco ciclos, utilizando 350 μL de solución de lavado por pocillo con un reposo de 1 minuto antes de retirar la solución.
 - En el último lavado, la placa se secó completamente invirtiéndola sobre papel absorbente.
8. Se añadió 90 μL de la solución sustrato TMB en cada pocillo, se selló nuevamente la placa y se incubó 20 minutos a 37°C, se observó un cambio de color azul.
9. Transcurrido el tiempo, se agregó 50 μL de la solución de detención de la reacción enzimática, lo cual generó un cambio de color de azul a amarillo (**Fig.21**).
10. Se limpió con cuidado la base de la placa para eliminar posibles gotas de agua o burbujas.
11. La placa se colocó en el fotómetro para microplacas **Multiscan FC™**.

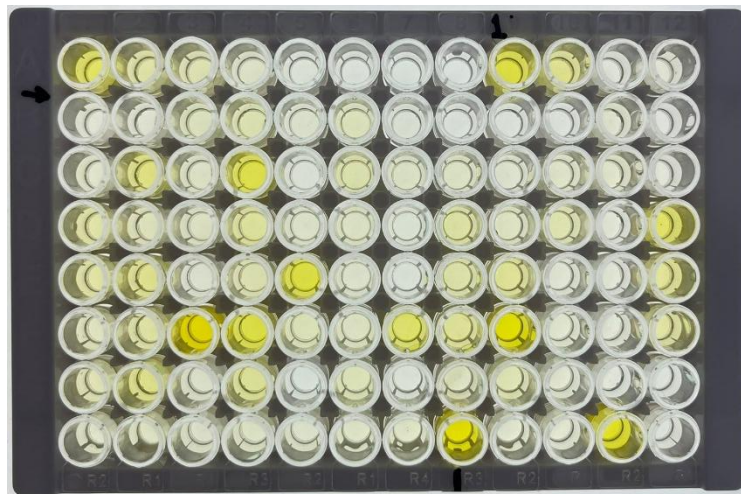


Fig. 21 Placa de ELISA para CA VI con distintas tonalidades de color amarillo en cada pocillo, entre mayor concentración de color existe mayor reacción de la enzima.

12. En el software **Skantl RE-6.1.1®**, se programó el protocolo de lectura con los siguientes parámetros:

- **Mezclado:** 5 segundos a velocidad baja.
- **Lectura de absorbancia:** Longitud de onda de 450 ± 10 nm a velocidad normal (**Fig. 22**).

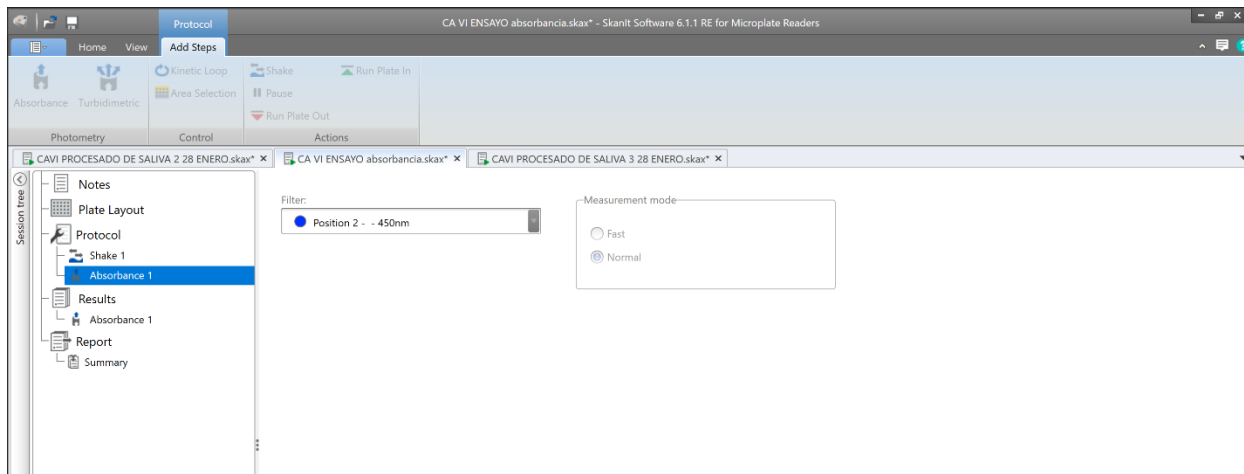


Fig. 22 Programación del protocolo deseado, con filtro de lectura de 450 nm

13. Se realizó la lectura de la placa ELISA.

14. Se obtuvieron los valores de absorbancia, y el software generó la curva estándar, utilizada para cuantificar CA VI comparando la densidad óptica de cada pocillo con los valores estándar (**Fig. 23**).

15. Se exportaron los resultados de absorbancia y concentración de CA VI a una base de datos en Excel® para su análisis.

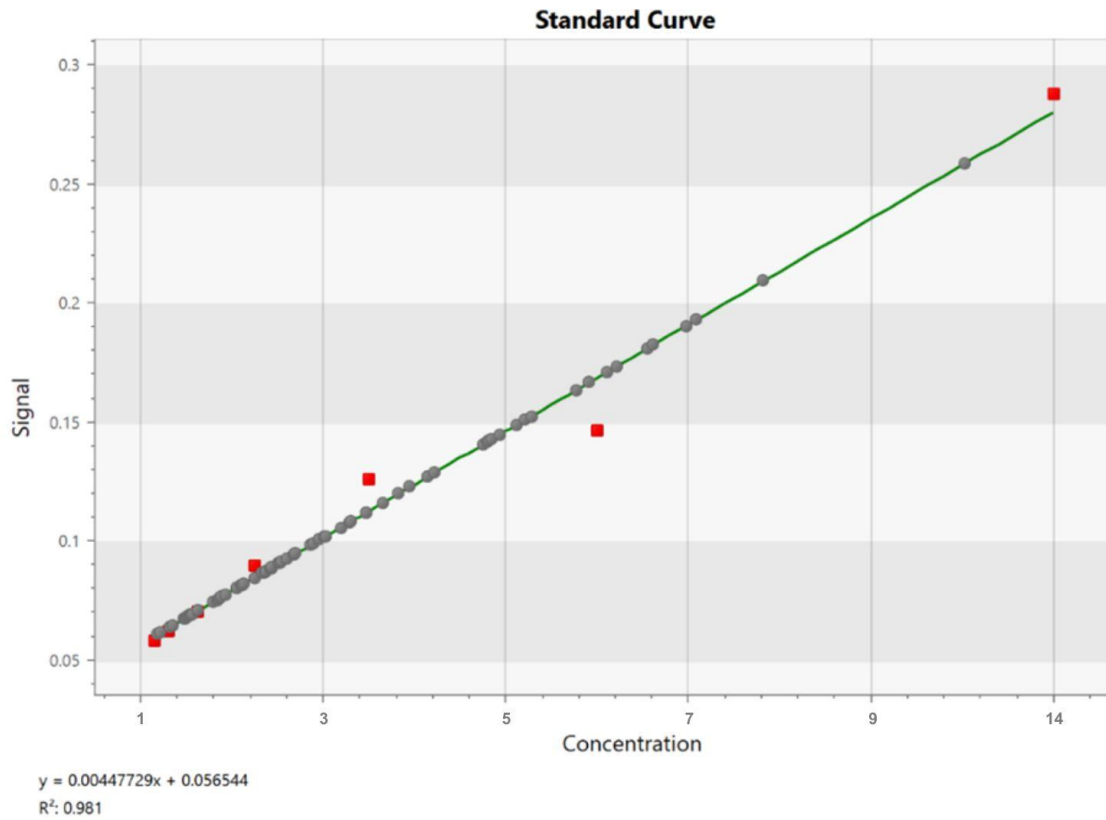


Fig. 23 Curva estándar generada por el programa. Los **cuadrados rojos** representan los puntos correspondientes a las diluciones del estándar, mientras que los **círculos grises** indican las señales obtenidas de las muestras de saliva analizadas. La curva estándar muestra una relación directa entre la concentración (en el eje X) y la señal de absorbancia (en el eje Y), utilizada para calcular la concentración de la anhidrasa carbónica VI en las muestras.

10.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- **Captura de datos:** Microsoft Excel 365®
- **Análisis estadístico:** se realizó con el paquete estadístico JAMOVI 2.3.28® y SPSS v.26®
- **Estadística descriptiva cualitativa:** Se utilizó frecuencias y porcentajes.
- **Estadística descriptiva cuantitativa:** Medidas de tendencia central y dispersión, según la distribución de los datos.
- **Distribución:** Shapiro Wilk
- **Comparación de medias:** Kruskal Wallis
- **Correlación:** Spearman
- **Determinar concordancia:** Coeficiente de correlación intraclase (CCI) + Kappa de Cohen
- Un p valor de <0.05 fue considerado como estadísticamente significativo.

9. RESULTADOS

Se obtuvo una muestra inicial de 107 niños, de los cuales 7 fueron eliminados por no presentarse el día de la toma de saliva, no cooperar durante la recolección de la muestra o no alcanzar el volumen mínimo requerido de 100 μ L de saliva glandular. Posteriormente, los participantes se clasificaron en tres grupos según su severidad de caries: sanos, lesión en esmalte y lesión en dentina. La muestra final, se analizó por edad y sexo, quedó conformada por un total de 88 participantes, 14 participantes en el grupo de sanos, 19 en el grupo de lesión en esmalte y 55 en el grupo de lesión de dentina.

Características de la muestra:

Se incluyeron un total de 88 participantes, de los cuales 46 fueron de hombres y 42 mujeres, como se detalla en la **Figura 24**. La edad media de los hombres fue de 5.13 ± 1.02 años, mientras que la de las mujeres fue de 4.90 ± 1.08 años, ambos con una edad mínima de 3 y máxima de 7 años.

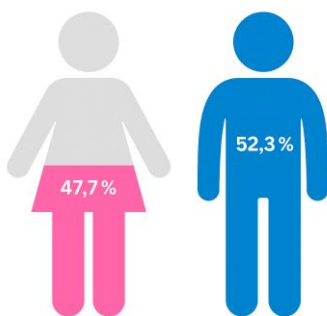


Fig. 24 Diagrama de sexo de la muestra final.

En cuanto a la etapa de desarrollo dental, se identificó que 66 participantes presentaban dentición temporal, mientras que 22 se encontraban en la fase de dentición mixta temprana. La prevalencia de caries fue del 84.1% al considerar lesiones de caries

en esmalte y dentina (ICDAS 1-6), y del 62.4% cuando se incluyeron únicamente las lesiones en dentina (ICDAS 3-6).

Los dientes más frecuentemente afectados fueron los segundos molares inferiores, siendo el código ICDAS 2 el más frecuente. En segundo lugar, fueron el segundo molar superior derecho y el canino superior derecho, predominando también el código ICDAS 2 en ambos casos, posteriormente, el segundo molar superior izquierdo presentó mayormente lesiones con código ICDAS 4. Los dientes menos afectados fueron los incisivos centrales inferiores.

Características demográficas por grupo:

Distribución por Sexo

La distribución por sexo se detalla en la **Fig.25**, el grupo con lesión en dentina presentó una mayor proporción de hombres, con 30 participantes, mientras que las mujeres fueron 25.

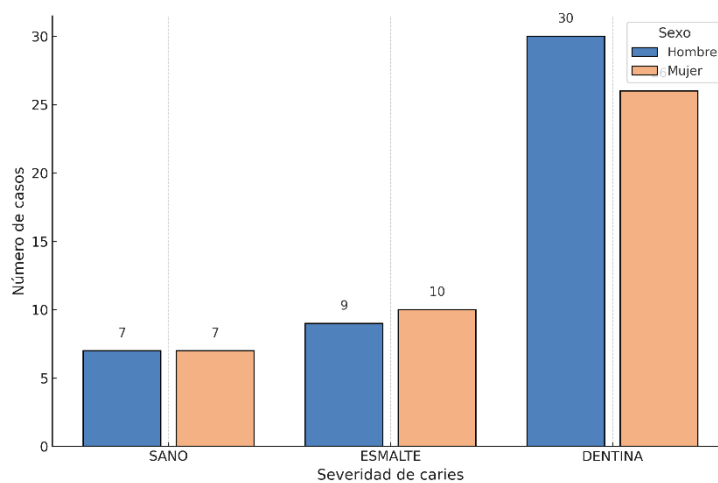


Fig. 25 Distribución de los participantes por grupos según el sexo.

La **Tabla 1** muestra los resultados de la prueba Chi-cuadrado de Pearson, realizada para evaluar la asociación entre el sexo y la presencia de caries. El p-valor obtenido fue de 0.850, lo cual indica que no existe una asociación estadísticamente significativa entre estas variables ($p > 0.05$). Por lo tanto, las diferencias observadas en las frecuencias de caries entre hombres y mujeres pueden atribuirse al azar.

Tabla 1. Pruebas de Chi-Cuadrado, Prueba de asociación entre sexo y caries.

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	0.326032	2	0.850
N de casos válidos	88	-	-

Al analizar las variables por grupo según su sexo en la **Tabla 2**, no se observaron diferencias relevantes. En cuanto a la capacidad buffer, los hombres presentaron una media superior 6.76 en comparación con las mujeres 6.2. Por otro lado, en la cantidad de CA VI las mujeres mostraron una mediana de 2.27 ± 2.11 frente a 2.07 ± 1.34 en hombres, mostrando gran variabilidad en los datos.

Tabla 2. Estadísticos Descriptivos de variables independientes según sexo.

Variable	Sexo	Media	IC 95% Inferior	IC 95% Superior	Mediana	DE	Mínimo	Máximo	Shapiro-Wilk (W)	p-valor
pH Tira	Hombre	7.15	7.02	7.28	7.2	0.4	6.2	7.8	0.948	0.041
pH Tira	Mujer	7.12	7.01	7.23	7.2	0.3	5.8	7.6	0.879	< .001
pH Potenciómetro	Hombre	7.3	7.18	7.42	7.33	0.3	6.17	8.03	0.955	0.074
pH Potenciómetro	Mujer	7.2	7.07	7.33	7.29	0.4	5.36	7.73	0.836	< .001
Capacidad Buffer	Hombre	6.76	5.94	7.58	6.0	2.7	1.0	12.0	0.953	0.06*
Capacidad Buffer	Mujer	6.29	5.52	7.05	6.0	2.4	1.0	12.0	0.975	0.46*
CA VI	Hombre	2.63	2.23	3.03	2.07	1.3	1.63	7.51	0.685	< .001
CA VI	Mujer	2.92	2.26	3.58	2.27	2.1	1.61	13.27	0.56	< .001

Los datos de la **Tabla 3** muestran que no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre el sexo y las variables analizadas en este estudio ($p > 0.05$ en todos los casos). Esto indica que las diferencias observadas entre hombres y mujeres en estas variables probablemente se deban al azar.

Tabla 3. Comparación de medias de variables según sexo.

		Estadístico	p
CA VI Cantidad	U de Mann-Whitney	874	0.445
pH Tira	U de Mann-Whitney	917	0.677
pH Potenciómetro	U de Mann-Whitney	838	0.285
Capacidad Buffer	T de Student	0.849	0.398

Distribución por Edad

La mediana de la edad fue de 5 años en todos los grupos, con una edad mínima de 3 y máxima de 7 años como se observa en la **Tabla 4** que muestra las frecuencias de cada grupo.

Tabla 4. Frecuencias de Edad por Grupo

Edad	Grupo	Frecuencia	% del Total	% Acumulado
3	SANO	2	2.3	2.3
3	ESMALTE	1	1.1	3.4
3	DENTINA	4	4.5	8.0
4	SANO	4	4.5	12.5
4	ESMALTE	3	3.4	15.9
4	DENTINA	11	12.5	28.4
5	SANO	4	4.5	33.0
5	ESMALTE	11	12.5	45.5
5	DENTINA	22	25.0	70.5
6	SANO	4	4.5	75.0
6	ESMALTE	2	2.3	77.3
6	DENTINA	12	13.6	90.9
7	SANO	0	0.0	90.9
7	ESMALTE	2	2.3	93.2
7	DENTINA	6	6.8	100.0

Correlación y asociación entre variables y edad:

Las variables no presentaron una distribución normal, en la **Tabla 5** se evidenció una correlación muy baja y no estadísticamente significativa entre la edad y las variables.

Adicionalmente, en el análisis de diferencias de medias en la **Tabla 6**, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables en relación con la edad ($p > 0.05$).

Tabla 5. Correlación entre edad y severidad de caries, pH con Tira Reactiva, pH con potenciómetro, capacidad buffer y CA VI.

Edad	Caries	pH Tira	pH Potenciómetro	Capacidad buffer	CA VI
Rho de Spearman	0.097	0.133	0.085	0.093	0.057
p	0.370	0.217	0.431	0.390	0.595

Tabla 6. Asociación entre edad; severidad de caries, pH con Tira Reactiva, pH con potenciómetro, capacidad buffer y CA VI.

		χ^2	P
Caries	Kruskal-Wallis	1.21	0.876
CA VI Cantidad	Kruskal-Wallis	1.06	0.900
pH Tira	Kruskal-Wallis	8.694	0.069*
pH Potenciómetro	Kruskal-Wallis	3.599	0.463
Capacidad Buffer	Kruskal-Wallis	2.307	0.680

Fiabilidad entre los métodos de medición de pH de saliva total

La distribución de las mediciones del pH de la saliva total obtenidas mediante tiras reactivas (pHTR) y potenciómetro (pHP) se presenta en la **Tabla 7**. La media de los valores de pHTR fue de 7.13, mientras que la de pHP fue de 7.25. Aunque las distribuciones de datos son similares, las mediciones con el potenciómetro fueron consistentemente más altas que las obtenidas con tiras reactivas (**Fig. 26**).

Debido a que los datos no siguieron una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon para evaluar las diferencias entre las dos mediciones. Los resultados indicaron una diferencia estadísticamente significativa entre las mediciones realizadas con tiras reactivas y potenciómetro ($p < 0.001$; ver **Tabla 7**). La diferencia promedio entre ambas mediciones fue de -0.130, lo que indica que las tiras reactivas subestiman el pH en aproximadamente 0.13 unidades en comparación con el potenciómetro.

La fiabilidad entre ambos métodos fue alta, con un coeficiente de correlación intraclase (CCI) de 0.822 (IC 95%: 0.741-0.880), lo cual también se muestra en la **Tabla 7**. Además, se observó una asociación lineal positiva moderada entre las mediciones de pHTR y pHP, con un valor de Rho de Spearman de 0.769 ($p < 0.001$; IC 95%). Este resultado es estadísticamente significativo, indicando que la relación observada no se debe al azar (**Fig. 27**).

Tabla 7. Descriptivas y comparaciones de pH.

	pH Tira	pH potenciómetro	Intervalos (IC)
Mediana	7.20	7.30	-
Desviación estándar	0.399	0.405	-
Mínimo	5.80	5.36	-
Máximo	7.80	8.03	-
W de Wilcoxon	900	-	-
p (Wilcoxon)	< .001*	-	-
Diferencia de medias	-0.13	-	-
CCI - Medidas únicas	0.822	-	0.741-0.880
CCI - Medidas promedio	0.903	-	0.851-0.936
Rho de Spearman (PH_TIRA)	1.0	0.769	-
Rho de Spearman (PH_POTE)	0.769*	1.0	-
P Spearman	< .001*	-	-

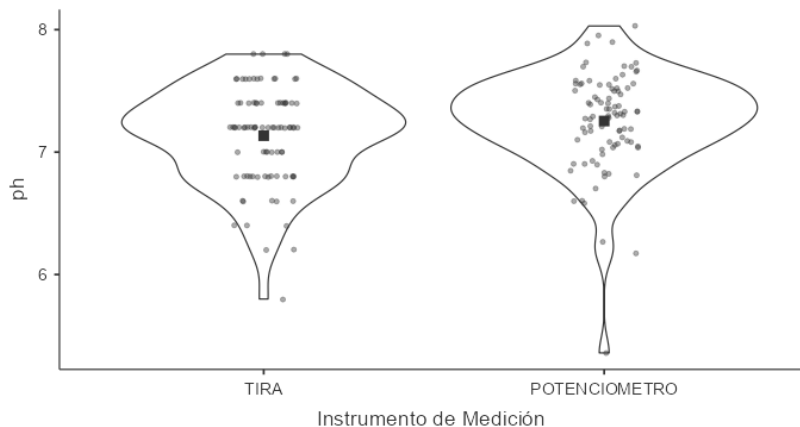


Fig. 26 Las formas de los violines ilustran la densidad de los datos, mientras que la dispersión de los puntos proporciona una visión detallada de la variabilidad. Se observa que los valores de pH medidos con el potenciómetro son consistentemente más altos y presentan una mayor dispersión en comparación con las tiras reactivas.

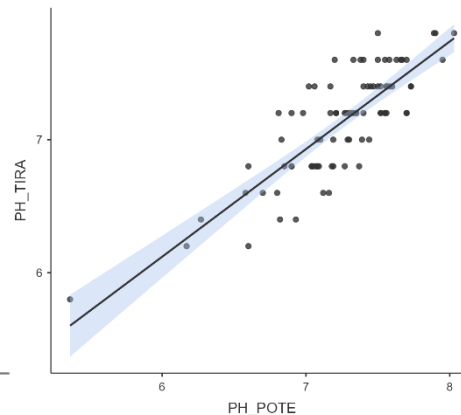


Fig. 27 Gráfico de dispersión que se observa una correlación positiva moderada entre ambos métodos, con la mayoría de los puntos alineados en torno a la línea de tendencia.

Asociación de CA VI, pH y capacidad buffer con la severidad de caries según ICDAS

En la **Tabla 8** se presentan los resultados descriptivos de las variables independientes clasificadas por grupos de severidad de caries: sano, lesión en esmalte y lesión en dentina.

pH medido con tira reactiva: Entre los grupos presentaron medianas muy similares, el grupo sano mostró una mediana de 7.20 (RIC 7.05-7.60) al igual que el grupo de dentina 7.20 (RIC 6.80-7.40), sin embargo, este último presentó datos mínimos de 5.80 en comparación con los demás grupos. Por último, el grupo con lesiones en esmalte presentó la mediana más baja 7.0 (RIC 6.80-7.30).

pH medido con potenciómetro: Todos los grupos presentaron medianas similares, el grupo sano presentó una mediana de 7.29 (RIC 7.20-7.62) en comparación con el

grupo con lesiones en esmalte 7.30 (RIC 7.08-7.46) y el grupo con lesiones en dentina 7.32 (RIC 7.04-7.51) con valores mínimos desde 5.36.

Capacidad buffer: Como se observa en la **Fig. 28** el grupo sano presentó la media más alta 7.64 ± 2.49 , seguido del grupo con lesiones en esmalte 6.32 ± 2.47 y el grupo con lesiones en dentina 6.33 ± 2.66 , sin embargo, el coeficiente de variación en todos los grupos fue mayor de 30% indicando que hay una alta variabilidad entre los datos.

Cantidad de anhidrasa carbónica VI (CA VI): La cantidad de CA VI fue mayor en el grupo con lesiones en dentina con una mediana de 2.25 (RIC 1.90-3.13) como se observa en la **Fig. 29**, seguido por el grupo con lesiones en esmalte 2.08 (RIC 1.99-2.56) y el grupo sano 1.88 (RIC 1.75-2.35).

Tabla 8. Estadísticos Descriptivos de variables independientes por grupos de severidad de caries.

Variable	Grupo	N	Media	Mediana	DE	Mínimo	Máximo	Asimetría	Curtosis	W (Shapiro-Wilk)	p	P25	P50	P75
pH Tira	SANO	14	7.24	7.2	0.34	6.6	7.6	-0.49	-0.91	0.876	0.051	7.05	7.2	7.6
	ESMALTE	19	7.04	7.0	0.33	6.4	7.6	-0.21	-0.81	0.953	0.438	6.8	7.0	7.3
	DENTINA	55	7.14	7.2	0.43	5.8	7.8	-0.86	0.88	0.93	0.003	7.0	7.2	7.4
pH Potenciómetro	SANO	14	7.37	7.29	0.32	7.0	7.96	0.16	-0.18	0.961	0.734	7.2	7.29	7.62
	ESMALTE	19	7.24	7.3	0.37	6.27	7.73	-1.16	1.66	0.915	0.09	7.08	7.3	7.46
	DENTINA	55	7.23	7.32	0.44	5.36	8.03	-1.63	5.51	0.892	< .001	7.04	7.32	7.53
Capacidad Buffer	SANO	14	7.64	8.0	2.5	2.0	12.0	-0.59	-1.0	0.958	0.687*	7.0	8.0	9.0
	ESMALTE	19	6.32	6.0	2.47	3.0	12.0	0.83	-0.17	0.901	0.052*	4.5	6.0	8.5
	DENTINA	55	6.33	6.0	2.67	1.0	12.0	-0.59	-0.54	0.96	0.465*	4.0	6.0	8.0
CA VI	SANO	14	2.35	1.88	1.18	1.64	6.07	2.77	8.2	0.617	< .001	1.75	1.88	2.35
	ESMALTE	19	2.42	2.08	0.92	1.61	4.92	1.57	7.49	0.689	< .001	1.99	2.08	2.56
	DENTINA	55	3.0	2.25	2.05	1.62	13.27	3.15	12.0	0.619	< .001	1.9	2.25	3.13

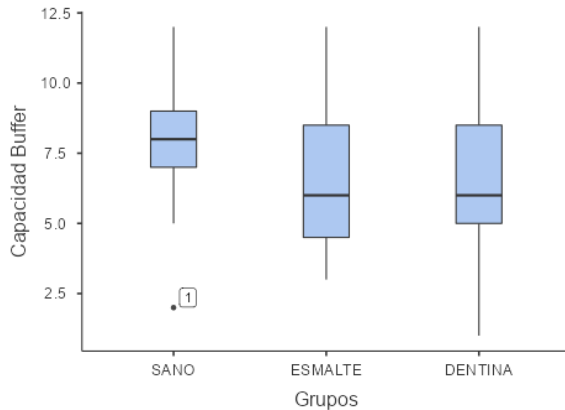


Fig. 28 Diagrama de caja que muestra la distribución de la capacidad buffer. El grupo sano presentó valores medianos más altos, mientras que los grupos con lesión en esmalte y dentina mostraron distribuciones más dispersas.

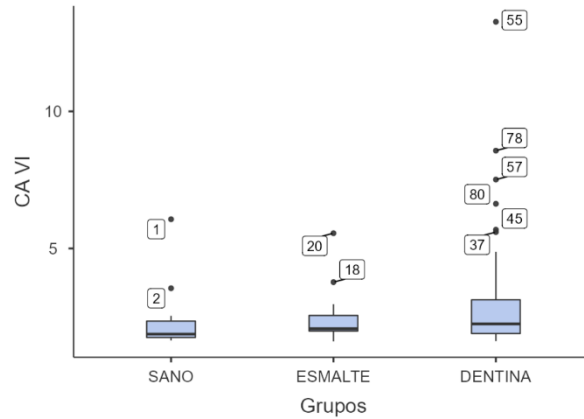


Fig. 29 Distribución de la cantidad de CA VI y severidad de caries. Se observa una tendencia hacia mayor cantidad de CA VI en el grupo con lesión en dentina.

En la **Tabla 9** se presentan los resultados de la correlación entre las variables analizadas. En cuestión a la correlación de los grupos de severidad de caries los coeficientes de Rho indicaron que todas las variables mostraron una correlación muy débil, con valores entre 0 y ± 0.19 . No se observaron correlaciones estadísticamente significativas entre la severidad de caries y las variables incluidas en el análisis ($p > 0.05$). Sin embargo, la variable CA VI presentó un valor de Rho = 0.19 y un valor de $p = 0.072$, el cual, aunque no significativo, se encuentra cercano al umbral de significancia.

Las variables de medición de pH con tira y con potenciómetro mostraron una correlación positiva moderada con la capacidad buffer salival ($\rho = 0.419$; $p < 0.001$) y ($\rho = 0.400$; $p < 0.001$) respectivamente.

Tabla 9. Correlación entre severidad de caries y variables independientes.

Variables	ρ de Spearman	Valor p
Grupos vs pH tira	0.005	0.963
Grupos vs pH potenciométrico	-0.084	0.436
Grupos vs Capacidad buffer	-0.132	0.221
Grupos vs CA VI	0.193	0.072*
pH tira vs pH potenciométrico	0.769	<0.001*
pH tira vs Capacidad buffer	0.419	<0.001*
pH tira vs CA VI	-0.037	0.733
pH potenciométrico vs Capacidad buffer	0.400	<0.001*
pH potenciométrico vs CA VI	-0.052	0.628
Capacidad buffer vs CA VI	-0.118	0.272

La **Tabla 10** detalla la asociación entre la severidad de caries y las variables independientes. De manera consistente con los resultados de la correlación, no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Por lo tanto, no se rechaza la hipótesis nula, indicando la ausencia de una asociación significativa entre la cantidad de CA VI y la severidad de caries.

Tabla 10. Asociación entre severidad de caries y variables independientes.

		χ^2	p
CA VI	Kruskal-Wallis	3.75	0.153
pH Tira	Kruskal-Wallis	2.65	0.266
pH Potenciómetro	Kruskal-Wallis	1.08	0.583
Capacidad Buffer	ANOVA	F=1.58	0.222

Aunque la prueba de Kruskal-Wallis no mostró diferencias estadísticamente significativas entre las variables salivales y los grupos de severidad de caries, se procedió a realizar una regresión logística ordinal para explorar posibles asociaciones.

El modelo presentó un pseudo R^2 de McFadden de 0.041, lo cual indica que aproximadamente el 4.1% de la variabilidad en la severidad de caries fue explicada por las variables evaluadas (**Tabla 11**).

Ninguna de las variables alcanzó significancia estadística ($p > 0.05$). Sin embargo, se observó en la **Tabla 12** una tendencia positiva para la concentración de CA VI ($\beta = 0.327$, $p = 0.108$), con un Odds Ratio (OR) de 1.39 (IC 95%: 0.99–2.21), aunque sin significancia estadística.

Asimismo, el pH determinado por potenciómetro mostró una tendencia inversa ($\beta = -1.173$, $p = 0.260$), con un OR de 0.31 (IC 95%: 0.04–2.22), aunque también sin significancia. De igual forma, la capacidad buffer ($\beta = -0.123$, OR = 0.88; IC 95%: 0.73–1.06; $p = 0.184$) y el pH medido por tira ($\beta = 1.150$, OR = 3.16; IC 95%: 0.43–25.84; $p = 0.267$) no mostraron asociaciones significativas con la severidad de caries.

Tabla 11. Regresión logística ordinal para la predicción de severidad de caries.

Modelo	Desviación	AIC	R^2 McF
1	155	167	0.0414

Tabla 12. Coeficientes del modelo de regresión lineal ordinal.

Predictor	Estimador	EE	Z	p	OR	IC Inferior	IC Superior
CA VI	0.327	0.2032	1.61	0.108	1.38*	0.98	2.21
Capacidad Buffer	-0.123	0.0929	-1.33	0.184	0.884	0.72	1.06
pH Potenciómetro	-1.173	1.0407	-1.13	0.26	0.309	0.03	2.22
pH Tira	1.15	1.0358	1.11	0.267	3.158	0.42	25.84

10. DISCUSIÓN

La caries es una enfermedad crónica multifactorial y dinámica que surge debido al desequilibrio entre los procesos de desmineralización y remineralización en los tejidos duros dentales [8]. Dicho desequilibrio es favorecido por exposiciones frecuentes a carbohidratos fermentables, los cuales generan un ambiente ácido en la cavidad bucal. Ante este escenario, la saliva cumple un rol fundamental gracias a su capacidad amortiguadora, atribuida principalmente al sistema bicarbonato, en el que participa activamente la enzima anhidrasa carbónica VI (CA VI), responsable del mantenimiento del equilibrio ácido-base y la regulación del pH bucal [91]. La presente investigación surge debido a la limitada evidencia disponible sobre la secreción de CA VI en saliva glandular y su posible asociación con la severidad de caries, especialmente en población pediátrica.

A diferencia de la saliva total, que es una mezcla de secreciones provenientes de múltiples glándulas salivales mayores y menores junto con elementos del entorno bucal, el análisis específico de saliva glandular permite evaluar directamente la producción de esta enzima desde su fuente principal, la glándula parótida [127]. Este abordaje disminuye la variabilidad externa y ofrece una perspectiva más precisa sobre el papel fisiológico de la CA VI, reforzando su potencial como biomarcador salival en la progresión de la caries [90].

Fernley *et al.* [66] llevaron a cabo una investigación en 50 adultos, en la cual recolectaron saliva parotídea estimulada con copas Carlson-Crittenden durante 6 minutos, y midieron la concentración de CA VI por medio de radioinmunoensayo, obteniendo una concentración media de 47.0 ± 39.2 $\mu\text{g/mL}$. En nuestro estudio, la

muestra de saliva se obtuvo utilizando un dispositivo plástico intraoral modificado, adaptado especialmente para niños, colocado por 5 a 10 minutos sin estimulación salival, logrando un volumen salival entre 70 y 500 μL [123]. La concentración media de CA VI encontrada fue de 2.77 ± 1.75 ng/mL. Esta concentración menor, comparada con los resultados reportados por Fernley *et al.* podría deberse a la diferencia en la edad de la muestra y al método de cuantificación empleado, ya que nuestro estudio utilizó la técnica ELISA en lugar de radioinmunoensayo [66].

El presente estudio se llevó a cabo en niños en edad preescolar hasta los 7 años, provenientes de zonas rurales y urbanas del estado de Puebla, México. La evaluación temprana de la enzima CA VI, las propiedades salivales y la severidad de la caries aporta información relevante sobre el comportamiento fisiológico y la capacidad adaptativa del organismo ante los hábitos alimenticios propios de la región. Estudios previos realizados por Picco *et al.*, Vasudevan *et al.*, y Piekoszewska-ZieRteka han abordado estas variables en poblaciones infantiles de Brasil, India y Polonia respectivamente, las cuales presentan diferencias culturales y alimentarias importantes [110,111].

La literatura existente sobre la cuantificación de CA VI en saliva total en niños preescolares es también limitada. Estudios previos realizados por Vasudevan *et al.*, y Picco *et al.*, evaluaron esta enzima en niños a partir de 6 y 7 años con dentición mixta, estableciendo comparaciones entre grupos con y sin caries, segmentados según índices como ceo-d o CPOD, Picco *et al.*, incluyendo lesiones de manchas blancas dentro del grupo cariado. Estos estudios contaron con tamaños muestrales de 30 y 37 participantes respectivamente [110,111,113]. En contraste, nuestro trabajo incluyó niños en edad preescolar desde los 3 hasta los 7 años, lo que permitió evaluar la concentración de CA

VI desde etapas tempranas posteriores a la erupción dentaria, en un periodo crítico en que el organismo se encuentra en adaptación a alimentos potencialmente cariogénicos. Se utilizó el sistema ICDAS para evaluar la severidad de lesiones cariosas, con el 75% de la muestra en dentición temporal y el resto en dentición mixta temprana. Esto permitió identificar con mayor precisión lesiones iniciales de caries (ICDAS 1 y 2), comúnmente observadas en las superficies vestibulares de incisivos superiores temporales los cuales exfolian entre los 7 a 8 años en la población mexicana [128,129]. Así mismo la muestra solo incluyó sujetos que no hayan tenido experiencia dental previa, ya que algunos tratamientos dentales como los materiales con fluoruro o bioactivos pueden influir en las propiedades salivales, aspectos que no fueron considerados en los estudios previamente mencionados [130,131].

Además, en nuestra investigación se establecieron tres grupos: niños libres de caries, niños con lesiones iniciales limitadas al esmalte y niños con lesiones avanzadas en dentina, con un tamaño muestral de 14, 19 y 55 participantes respectivamente. El uso del sistema ICDAS aportó una caracterización más detallada y sensible de las lesiones cariosas en comparación con índices tradicionales como ceo-d o CPOD, que registran únicamente lesiones cavitadas lo que suele subestimar la prevalencia real de la enfermedad. Esta metodología resulta particularmente útil en población pediátrica, ya que facilita la detección temprana de lesiones cariosas y permite la implementación oportuna de medidas preventivas. [119].

La muestra total del estudio estuvo conformada por 88 participantes, de los cuales el 47.7% fueron mujeres y el 52.3% hombres. La prevalencia de caries registrada fue del 84.1% al considerar tanto lesiones en esmalte como en dentina (ICDAS 1-6), mientras el

62.4% cuando se tomaron en cuenta únicamente las lesiones en dentina (ICDAS 3-6). Un estudio previo realizado por Lara *et al.*, (2021) en Guadalajara, México, evaluó la prevalencia de caries utilizando el sistema ICDAS en 409 niños de 3 a 5 años con características similares a nuestra muestra, dividiéndolos también en grupos: niños libres de caries (ICDAS 0), con lesiones iniciales limitadas al esmalte (ICDAS 1-2) y niños con al menos una lesión en dentina (ICDAS 3-6). De estos, el 53.8% fueron niñas y el 46.2% niños. La prevalencia de caries reportada fue del 82.2% considerando lesiones en esmalte y dentina (ICDAS 1-6) y del 45% al considerar únicamente lesiones en dentina (ICDAS 3-6). La muestra del estudio tuvo características similares a nuestro estudio en cuanto a la distribución por edad y sexo, además la prevalencia observada al incluir lesiones en esmalte y dentina fue similar. Sin embargo, se observó una mayor prevalencia en nuestra muestra al considerar únicamente lesiones en dentina. Esta diferencia podría atribuirse a que el estudio de Lara *et al.*, incluyó niños con tratamientos restaurativos dentales previos, así como a las variaciones en hábitos alimenticios y culturales entre distintas regiones del país. En ambos estudios no se observó asociación entre caries y sexo, sin embargo, se observó un aumento en la prevalencia de caries del 21.7% al 37.2% al incluir lesiones iniciales en esmalte (ICDAS 1-2) [37]. Esto indica la importancia de identificar los estadios tempranos de caries en niños en edad preescolar, con el objetivo de desarrollar estrategias efectivas que permitan controlar la progresión de la enfermedad.

Los dientes más frecuentemente afectados fueron los segundos molares inferiores, presentando mayormente lesiones de tipo ICDAS 3, mientras que los menos afectados fueron los incisivos laterales inferiores, con lesiones predominantemente ICDAS 2. Estos

hallazgos coinciden con estudios recientes reportados por Rai *et al.*, (2024), quienes realizaron un estudio para comparar la severidad y el patrón de caries según el tipo de diente en 200 niños de 24 a 71 meses en Nepal, utilizando también el sistema ICDAS. En dicho estudio se observó que los segundos molares mandibulares fueron los dientes más afectados, presentes en el 74% de los casos con lesiones ICDAS 6 predominantes, mientras que los incisivos laterales inferiores fueron los menos afectados, involucrados en el 9.04% de los casos [129]. Estas diferencias podrían explicarse por la dificultad que presentan los niños pequeños para realizar una higiene bucal efectiva en áreas posteriores, resultando en una insuficiente desorganización del biofilm en comparación con las zonas anteriores.

En nuestra población, el sexo no mostró una asociación significativa con las variables salivales evaluadas, lo cual coincide con lo reportado por González-Aragón *et al.*, y Rajendra *et al.*, quienes no encontraron diferencias consistentes por género en parámetros como pH, flujo salival o capacidad buffer en niños [132,133]. De forma similar, la edad presentó una correlación muy baja y no significativa con las variables salivales y caries, en concordancia con estudios previos de Ramezani *et al.*, quienes no identificaron una relación clara entre la edad y estas variables [132,134].

Los resultados muestran una buena fiabilidad entre las tiras reactivas y el potenciómetro en la medición del pH salival total con un CCI de 0.82. Se obtuvo correlación positiva moderadamente fuerte ($Rho = 0.769$; $p < 0.001$). Estos hallazgos coinciden con estudios previos en adultos y sugieren que, si bien el potenciómetro es más preciso, las tiras siguen siendo una herramienta clínicamente útil ya que ambos métodos son consistentes entre sí y confiables [135].

En cuanto al pH y la capacidad buffer salival, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de severidad de caries, aunque el grupo sano presentó valores ligeramente más altos. Este hallazgo coincide con lo reportado por Ramezani *et al.*, quienes tampoco encontraron una relación significativa entre estas variables y la actividad de caries en niños [134]. Por otro lado, Picco *et al.*, encontraron un pH significativamente más bajo en el biofilm de niños con caries, estas diferencias pueden deberse al momento y condiciones de recolección de saliva [110]. De manera similar, Vasudevan *et al.*, reportaron una mayor capacidad buffer en niños libres de caries, lo que respalda la tendencia observada en nuestro estudio [113].

En relación con la concentración de CA VI, en nuestro estudio se observó una tendencia hacia valores más altos en el grupo con lesiones en dentina, aunque sin alcanzar significancia estadística ($p > 0.15$). Asimismo, el análisis de regresión logística ordinal mostró un coeficiente positivo para CA VI ($\beta = 0.327$; $p = 0.108$), con Odds Ratio de 1.39 (IC 95%: 0.99–2.21), lo que sugiere una posible asociación con mayor severidad de caries. Sin embargo, dado que el valor de p superó el umbral convencional de significancia estadística ($p > 0.05$), se acepta la hipótesis nula de no asociación entre la concentración de CA VI y la severidad de caries medida mediante el sistema ICDAS.

A pesar de ello, se identificó una correlación débil ($Rho = 0.19$) con un valor de p marginal ($p = 0.072$), lo que sugiere una posible tendencia que podría alcanzar significancia en estudios con mayor tamaño muestral. Este hallazgo es consistente con lo reportado por Vasudevan *et al.*, quienes también encontraron concentraciones más altas de CA VI en niños con caries, lo cual podría interpretarse como una respuesta adaptativa frente al ambiente ácido del medio bucal [113]. En contraste, estudios como

los de Picco *et al.*, encontraron que, si la actividad de CA VI era mayor en niños con caries, su concentración era más baja en comparación con los niños libres de caries. De forma similar, Kivelä *et al.*, observaron concentraciones reducidas de CA VI en adultos con mayor índice de caries (DMFT) [90,110,111]. Estas discrepancias resaltan la importancia de distinguir entre la cantidad y la actividad funcional de la enzima, ya que su participación en el control del pH podría depender más de su activación en condiciones ácidas que de su concentración absoluta en saliva.

Las diferencias entre estudios también podrían atribuirse a variables metodológicas como el tipo de muestra salival utilizada (saliva glandular, total o biofilm), así como a las características de la población. En nuestro caso, la muestra estuvo compuesta principalmente por niños en edad preescolar, quienes dependen completamente del cuidado bucodental proporcionado por sus padres para que haya una adecuada desorganización del biofilm. Diferencia de otras investigaciones realizadas en población escolar. Además, se seleccionaron sujetos que no habían recibido intervenciones odontológicas previas, lo cual podría influir en la condición bucal en el momento del estudio. También es necesario considerar los hábitos culturales de cada población; en el caso particular de México, el alto consumo y la frecuencia en la ingesta de azúcares fermentables pueden modificar la acidez del medio bucal y la dinámica del sistema de bicarbonato/ ácido carbónico.

En conjunto, los hallazgos de este estudio destacan la utilidad de evaluar saliva glandular para estudiar biomarcadores salivales como CA VI, y fortalecen el valor del sistema ICDAS en la clasificación detallada de la caries. Aunque los resultados no alcanzaron significancia estadística en su totalidad, aportan información relevante sobre

el comportamiento de la CA VI frente a la severidad de la caries y abren nuevas líneas de investigación en el campo de la prevención bucal pediátrica.

El presente estudio tiene algunas limitaciones metodológicas que es necesario considerar. Entre ellas destaca el tamaño muestral reducido, especialmente en los grupos "sano" y "lesión en esmalte", lo cual podría haber limitado la potencia estadística para detectar asociaciones significativas. Además, el diseño transversal empleado no permite establecer relaciones causales ni determinar la temporalidad entre la concentración de CA VI, las propiedades salivales y la severidad de caries. Otra limitante importante es que no se evaluó la actividad funcional de la enzima CA VI, aspecto clave para comprender de manera más completa su posible rol protector o adaptativo frente al proceso carioso.

A pesar de estas limitaciones, los resultados obtenidos proporcionan perspectivas valiosas para futuras investigaciones. Se recomienda aumentar el tamaño muestral, realizar estudios longitudinales y llevar a cabo comparaciones entre concentración y actividad de CA VI en diferentes tipos de muestras salivares (saliva glandular, total y biofilm), con la finalidad de comprender mejor el papel funcional de esta enzima en la progresión de la caries dental. Asimismo, es fundamental incorporar en futuras investigaciones cuestionarios de riesgo a caries para comprender con mayor precisión la influencia de estas variables en la función salival y avanzar hacia modelos de predicción del riesgo de caries más completos y sensibles, particularmente en población infantil.

11. CONCLUSIÓN

Las evaluaciones del riesgo de caries validadas por organismos internacionales, como la Academia Americana de Odontología Pediátrica (AAPD), generalmente consideran parámetros salivales como el flujo y el pH. Sin embargo, en el presente estudio no se identificaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de pH salival entre niños sanos y aquellos con lesiones de caries. Además, se observó una alta concordancia en los resultados obtenidos mediante tiras reactivas y potenciómetro, lo cual sugiere que cualquiera de estas técnicas podría utilizarse para evaluar el pH salival en la práctica clínica, dependiendo de la disponibilidad de recursos y la situación específica.

Por otro lado, la alta prevalencia de caries observada en la población estudiada resalta la necesidad de replantear y complementar las actuales estrategias de evaluación del riesgo, incorporando otros componentes salivales adicionales al flujo y al pH. En particular, se identificó una tendencia hacia concentraciones más elevadas de la enzima anhidrasa carbónica VI (CA VI) en niños con lesiones más avanzadas (dentina). No obstante, esta variable, junto con el pH y la capacidad buffer, explicó solo una pequeña proporción de la variabilidad observada en la severidad de la caries. Por lo tanto, estos hallazgos sugieren que otros factores, como los hábitos dietéticos, la higiene bucal, la composición microbiológica del biofilm y aspectos socioculturales, podrían tener un papel más determinante en el desarrollo y progresión de esta enfermedad.

12. BIOÉTICA

En concordancia con el Tratado de Helsinki, esta investigación garantizó la protección de la dignidad, integridad y confidencialidad de la información personal de los pacientes pediátricos que participaron en el estudio. Asimismo, el protocolo no representó ningún riesgo para la salud de los participantes y se sustentó en bibliografía científica basada en evidencia y en estudios previos realizados en poblaciones similares [114].

Conforme al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, con su última reforma de 2014, la investigación fue clasificada, de acuerdo con el Artículo 17, como un estudio de riesgo mínimo, ya que empleó procedimientos comunes en exámenes físicos de diagnóstico o tratamiento rutinario [115].

La investigación siguió las disposiciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-12-SSA3-2012, la cual define los criterios administrativos, éticos y metodológicos para la ejecución de proyectos de investigación en seres humanos [116].

Se cumplieron los lineamientos establecidos en convenios internacionales sobre investigación en seres humanos, incluidos los Tratados de Helsinki y Tokio, así como en la Ley General de Salud, específicamente en su Artículo 11, el cual establece el respeto a la integridad física y mental del grupo de estudio [114,116].

Para la elaboración del consentimiento informado, se tomaron en cuenta las recomendaciones del Código de Núremberg, el cual establece principios para la protección de los derechos de los participantes en la investigación. Se garantizó que el estudio estuviera plenamente justificado por los resultados esperados [117].

El Informe de Belmont sirvió como base para la formulación de principios éticos y directrices para la protección de los participantes, asegurando el respeto a su autonomía, es decir, la capacidad de decidir libremente si deseaban participar en el estudio una vez que se les explicaron los riesgos, beneficios y posibles complicaciones. Asimismo, se garantizó el principio de beneficencia, promoviendo mayores beneficios y minimizando los riesgos [118].

Todos los participantes y sus padres o tutores recibieron información verbal y escrita sobre el estudio, en la que se justificaron los objetivos y beneficios esperados. Posteriormente, se solicitó la firma del consentimiento informado del padre o tutor antes del inicio del estudio (**Anexo 2**). Se aseguraron todas las precauciones necesarias para evitar lesiones, dolor o sufrimiento mental o físico innecesario. En caso de que un participante experimentara algún malestar físico o emocional, tuvo el derecho de solicitar la suspensión de su participación.

Manejo de las Muestras de Saliva

El manejo de las muestras de saliva se realizó conforme a los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, la cual establece disposiciones para la protección ambiental y dicta el almacenamiento y eliminación de residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI). Las **muestras de saliva no se consideran RPBI**, ya que correspondían a muestras biológicas obtenida de pacientes sanos y destinadas a análisis bioquímicos sin involucrar microorganismos patógenos. Una vez utilizada la cantidad necesaria de saliva para el estudio, las muestras fueron posteriormente almacenadas a -80°C, con el propósito de ser conservadas para futuras investigaciones en el laboratorio [116].

13. BIBLIOGRAFÍA

- [1] World Health Organization, editor. Global oral health status report: towards universal health coverage for oral health by 2030. 2022nd ed. Geneva: 2022.
- [2] Lomelí Buyoli G, Mejía González AM, Contreras Rosales J. Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) 2023. Ciudad de México: Secretaría de Salud; 2024.
- [3] Secretaría De Salud. Resultados del Sistema De Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales Sivepab 2009. México, D.F.: 2010.
- [4] Pitts NB, Twetman S, Fisher J, Marsh PD. Understanding dental caries as a non-communicable disease. *Br Dent J* 2021;231:749–53. <https://doi.org/10.1038/s41415-021-3775-4>.
- [5] Aframian DJ, Davidowitz T, Benoliel R. The distribution of oral mucosal pH values in healthy saliva secretors. *Oral Dis* 2006;12:420–3. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2005.01217.x>.
- [6] Ramezani J, Khaligh M, Ansari G, Yazdani Y, Mohammadi S. Association of salivary physicochemical characteristics and peptide levels with dental caries in children. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* 2021;39:189–95. https://doi.org/10.4103/JISPPD.JISPPD_251_20.
- [7] Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Adv Dent Res* 2000;14:40–7. <https://doi.org/10.1177/08959374000140010601>.
- [8] MacHiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, Jablonski-Momeni A, et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res* 2020;54:7–14. <https://doi.org/10.1159/000503309>.
- [9] Featherstone JDB. The Continuum of Dental Caries—Evidence for a Dynamic Disease Process. *J Dent Res* 2004;83:39–42. <https://doi.org/10.1177/154405910408301s08>.
- [10] Phantumvanit P, Makino Y, Ogawa H, Rugg-Gunn A, Moynihan P, Petersen PE, et al. WHO Global Consultation on Public Health Intervention against Early Childhood Caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2018;46:280–7. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12362>.
- [11] Hussain Wyne A. Early childhood caries: United Arab Emirates nomenclature and case definition. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999;27:313–8.
- [12] Bernabe E, Marcenes W, Hernandez CR, Bailey J, Abreu LG, Alipour V, et al. Global, Regional, and National Levels and Trends in Burden of Oral Conditions from 1990

to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease 2017 Study. *J Dent Res* 2020;99:362–73. <https://doi.org/10.1177/0022034520908533>.

[13] Harrison JJ, Raymond J. Turner, Marques LLR. Biofilms: A new understanding of these microbial communities is driving a revolution that may transform the science of microbiology. *Am Sci* 2005;93:508–15.

[14] Mathur VP, Dhillon JK. Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. *Indian J Pediatr* 2018;85:202–6. <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2381-6>.

[15] Mosaddad SA, Tahmasebi E, Yazdanian A, Rezvani MB, Seifalian A, Yazdanian M, et al. Oral microbial biofilms: an update. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2019;38:2005–19. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03641-9>.

[16] Takahashi N. Oral microbiome metabolism: From “who are they?” to “what are they doing?” *J Dent Res* 2015;94:1628–37. <https://doi.org/10.1177/0022034515606045>.

[17] Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 1994;8:263–71. <https://doi.org/10.1177/08959374940080022001>.

[18] Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New Approaches to Enhanced Remineralization of Tooth Enamel. *J Dent Res* 2010;89:1187–97. <https://doi.org/10.1177/0022034510376046>.

[19] Dong YM, Pearce EI, Yue L, Larsen MJ, Gao XJ, Wang JD. Plaque pH and associated parameters in relation to caries. *Caries Res*. 1999 Nov-Dec;33(6):428–36. doi:10.1159/000016547. PMID: 10529527.

[20] Frassetto F, Parisotto TM, Peres RCR, Marques MR, Line SRP, Nobre Dos Santos M. Relationship among salivary carbonic anhydrase vi activity and flow rate, biofilm ph and caries in primary dentition. *Caries Res* 2012;46:194–200. <https://doi.org/10.1159/000337275>.

[21] Dong Y-M, Pearce EIF, Yue L, Larsen MJ, Gao X-J, Wang J-D. Plaque pH and Associated Parameters in Relation to Caries. *Caries Res* 1999;33:428–36. <https://doi.org/10.1159/000016547>.

[22] Bardow A, Madsen J, Nauntofte B. The bicarbonate concentration in human saliva does not exceed the plasma level under normal physiological conditions. *Clin Oral Investig* 2000;4:245–53. <https://doi.org/10.1007/s007840000077>.

[23] Bardow A, Moe D, Nyvad B, Nauntofte B. The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO₂. *Arch Oral Biol* 2000;45:1–12. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(99\)00119-3](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(99)00119-3).

[24] Featherstone Jdb. The Science And Practice Of Caries Prevention. *The Journal of the American Dental Association* 2000;131:887–99. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2000.0307>.

- [25] Featherstone JDB. Diffusion Phenomena and Enamel Caries Development. *Cariology Today*, S. Karger AG; n.d., p. 259–68. <https://doi.org/10.1159/000408746>.
- [26] Conrads G, About I. Pathophysiology of Dental Caries. *Monogr Oral Sci* 2018;27:1–10. <https://doi.org/10.1159/000487826>.
- [27] ten Cate JM. Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention. *Br Dent J* 2013;214:161–7. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2013.162>.
- [28] About I, Bottero MJ, De Denato P, Camps J, Franquin JC, Mitsiadis TA. Human dentin production in vitro. *Exp Cell Res* 2000;258:33–41. <https://doi.org/10.1006/excr.2000.4909>.
- [29] Wong HM. Childhood Caries Management. *Int J Environ Res Public Health* 2022;19:8527. <https://doi.org/10.3390/ijerph19148527>.
- [30] Berkowitz RJ. Causes, treatment and prevention of early childhood caries: a microbiologic perspective. *J Can Dent Assoc* 2003;69:304–7.
- [31] Moynihan PJ, Kelly SAM. Effect on caries of restricting sugars intake: Systematic review to inform WHO guidelines. *J Dent Res* 2014;93:8–18. <https://doi.org/10.1177/0022034513508954>.
- [32] Harris R, Nicoll AD, Adair PM, Pine CM. Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature. *Community Dent Health* 2004;21:71–85.
- [33] Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>.
- [34] Uribe S. Early childhood caries – risk factors. *Evid Based Dent* 2009;10:37–8. <https://doi.org/10.1038/sj.ebd.6400642>.
- [35] Martignon S, Roncalli Ag, Alvarez E, Aránguiz V, Feldens Ca, Buzalaf Mar. Risk factors for dental caries in Latin American and Caribbean countries. *Braz Oral Res* 2021;35. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0053>.
- [36] Watt RG, Sheiham A. Integrating the common risk factor approach into a social determinant's framework. *Community Dent Oral Epidemiol* 2012;40:289–96. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.2012.00680.x>.
- [37] Lara JS, Romano A, Murisi PU, Tedesco TK, Mendes FM, Soto-Rojas AE, et al. Impact of early childhood caries severity on oral health-related quality of life among preschool children in Mexico: A cross-sectional study. *Int J Paediatr Dent* 2022;32:334–43. <https://doi.org/10.1111/ipd.12889>.
- [38] Estupiñan-Day SPAHO. Promoting oral health: the use of salt fluoridation to prevent dental caries. Washington, D.C: 2005.
- [39] WORLD HEALTH ORGANIZATION. A Conceptual Framework for Action on the Social Determinants of Health. Geneva: 2010.

- [40] Peres KG, Thomson WM, Chaffee BW, Peres MA, Birungi N, Do LG, et al. Oral Health Birth Cohort Studies: Achievements, Challenges, and Potential. *J Dent Res* 2020;99:1321–31. <https://doi.org/10.1177/0022034520942208>.
- [41] Schwendicke F, Dörfer CE, Schlattmann P, Page LF, Thomson WM, Paris S. Socioeconomic Inequality and Caries. *J Dent Res* 2015;94:10–8. <https://doi.org/10.1177/0022034514557546>.
- [42] Guizar Mendoza JM, López Ayuso CA, Amador Licona N, Lozano Palomino O, García Gutiérrez CA. Determinantes del cuidado de la salud oral relacionados con la frecuencia y severidad de la caries dental en preescolares. *Nova Scientia* 2019;11:85–101. <https://doi.org/10.21640/ns.v11i22.1708>.
- [43] Van der Tas JT, Kragt L, Veerkamp JJS, Jaddoe VWV, Moll HA, Ongkosuwito EM, et al. Ethnic Disparities in Dental Caries among Six-Year-Old Children in the Netherlands. *Caries Res* 2016;50:489–97. <https://doi.org/10.1159/000448663>.
- [44] Paglia L, Scaglioni S, Torchia V, De Cosmi V, Moretti M, Marzo G, et al. Familial and dietary risk factors in Early Childhood Caries. *Eur J Paediatr Dent* 2016;17:93–9.
- [45] Peres MA, Sheiham A, Liu P, Demarco FF, Silva AER, Assunção MC, et al. Sugar Consumption and Changes in Dental Caries from Childhood to Adolescence. *J Dent Res* 2016;95:388–94. <https://doi.org/10.1177/0022034515625907>.
- [46] Moynihan PJ, Kelly SAM. Effect on Caries of Restricting Sugars Intake. *J Dent Res* 2014;93:8–18. <https://doi.org/10.1177/0022034513508954>.
- [47] Ventura AK, Worobey J. Early Influences on the Development of Food Preferences. *Current Biology* 2013;23:R401–8. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.02.037>.
- [48] World Health Organization. Guideline: Sugars Intake for Adults and Children. Geneva: World Health Organization; 2015. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549028> [consultado el 15 mayo 2025].
- [49] Sheiham A. Sucrose and Dental Caries. *Nutr Health* 1987;5:25–9. <https://doi.org/10.1177/026010608700500205>.
- [50] Kumar S, Tadakamadla J, Johnson NW. Effect of Toothbrushing Frequency on Incidence and Increment of Dental Caries. *J Dent Res* 2016;95:1230–6. <https://doi.org/10.1177/0022034516655315>.
- [51] Pessan JP, Alves KMRP, Italiani F de M, Ramires I, Lauris JRP, Whitford GM, et al. Distribution of fluoride and calcium in plaque biofilms after the use of conventional and low-fluoride dentifrices. *Int J Paediatr Dent* 2014;24:293–302. <https://doi.org/10.1111/ipd.12073>.

- [52] Olmez S, Uzamiş M, Erdem G. Association between early childhood caries and clinical, microbiological, oral hygiene and dietary variables in rural Turkish children. *Turk J Pediatr* 2003;45:231–6.
- [53] NICE Clinical Guidelines. Dental Recall Recall interval between routine dental examinations. 19th ed. London: National Collaborating Centre for Acute Care (UK; 2004.
- [54] Marinho VC, Worthington H V, Walsh T, Clarkson JE. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013;2014. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002279.pub2>.
- [55] Fee PA, Riley P, Worthington H V, Clarkson JE, Boyers D, Beirne P V. Recall intervals for oral health in primary care patients. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2020;2020. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004346.pub5>.
- [56] Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *J Clin Microbiol* 2005;43:5721–32. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005>.
- [57] Zaura E, Keijser BJ, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy “core microbiome” of oral microbial communities. *BMC Microbiol* 2009;9:259. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-259>.
- [58] Featherstone JDB, Nelson DGA, McLean JD. An Electron Microscope Study of Modifications to Defect Regions in Dental Enamel and Synthetic Apatites. *Caries Res* 1981;15:278–88. <https://doi.org/10.1159/000260527>.
- [59] Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology (N Y)* 2003;149:279–94. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26082-0>.
- [60] Marsh PD. Ecological Events in Oral Health and Disease: New Opportunities for Prevention and Disease Control? *J Calif Dent Assoc* 2017;45:525–37. <https://doi.org/10.1080/19424396.2017.12222502>.
- [61] Tanner ACR, Kressirer CA, Faller LL. Understanding Caries From the Oral Microbiome Perspective. *J Calif Dent Assoc* 2016;44:437–46.
- [62] Palmer RJ, Cotton SL, Kokaras AS, Gardner P, Grisius M, Pelayo E, et al. Analysis of oral bacterial communities: comparison of HOMI NGS with a tree-based approach implemented in QIIME. *J Oral Microbiol* 2019;11:1586413. <https://doi.org/10.1080/20002297.2019.1586413>.
- [63] Takahashi N, Nyvad B. The Role of Bacteria in the Caries Process. *J Dent Res* 2011;90:294–303. <https://doi.org/10.1177/0022034510379602>.
- [64] Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986;50:353–80. <https://doi.org/10.1128/mr.50.4.353-380.1986>.

- [65] Simón-Soro A, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends Microbiol* 2015;23:76–82. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.10.010>.
- [66] Fernley RT, Farthing J, Cooper EJ. Radioimmunoassay for salivary carbonic anhydrase in human parotid saliva. *Arch Oral Biol* 1995;40:567–9. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(95\)00001-6](https://doi.org/10.1016/0003-9969(95)00001-6).
- [67] Badet C, Thebaud NB. Ecology of Lactobacilli in the Oral Cavity: A Review of Literature. *Open Microbiol J* 2008;2:38–48. <https://doi.org/10.2174/1874285800802010038>.
- [68] Lepp PW, Brinig MM, Ouverney CC, Palm K, Armitage GC, Relman DA. Methanogenic Archaea and human periodontal disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004;101:6176–81. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308766101>.
- [69] Klinké T, Kneist S, de Soet JJ, Kuhlisch E, Mauersberger S, Förster A, et al. Acid Production by Oral Strains of *Candida albicans* and *Lactobacilli*. *Caries Res* 2009;43:83–91. <https://doi.org/10.1159/000204911>.
- [70] Henne K, Rheinberg A, Melzer-Krick B, Conrads G. Aciduric microbial taxa including *Scardovia wiggisiae* and *Bifidobacterium* spp. in caries and caries free subjects. *Anaerobe* 2015;35:60–5. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.04.011>.
- [71] Conrads G, de Soet JJ, Song L, Henne K, Sztajer H, Wagner-Döbler I, et al. Comparing the cariogenic species *Streptococcus sobrinus* and *S. mutans* on whole genome level. *J Oral Microbiol* 2014;6:1–13. <https://doi.org/10.3402/jom.v6.26189>.
- [72] Cagetti MG, Bontà G, Cocco F, Lingstrom P, Strohmer L, Campus G. Are standardized caries risk assessment models effective in assessing actual caries status and future caries increment? A systematic review. *BMC Oral Health* 2018;18:123. <https://doi.org/10.1186/s12903-018-0585-4>.
- [73] Vargas-Ferreira F, Salas MMS, Nascimento GG, Tarquinio SBC, Faggion CM, Peres MA, et al. Association between developmental defects of enamel and dental caries: A systematic review and meta-analysis. *J Dent* 2015;43:619–28. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.03.011>.
- [74] Schüller IM, Haberstroh S, Dawczynski K, Lehmann T, Heinrich-Weltzien R. Dental Caries and Developmental Defects of Enamel in the Primary Dentition of Preterm Infants: Case-Control Observational Study. *Caries Res* 2018;52:22–31. <https://doi.org/10.1159/000480124>.
- [75] Costa FS, Silveira ER, Pinto GS, Nascimento GG, Thomson WM, Demarco FF. Developmental defects of enamel and dental caries in the primary dentition: A systematic review and meta-analysis. *J Dent* 2017;60:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2017.03.006>.

- [76] Pini D de M, Fröhlich PCGR, Rigo L. Oral health evaluation in special needs individuals. *Einstein (São Paulo)* 2016;14:501–7. <https://doi.org/10.1590/s1679-45082016ao3712>.
- [77] Dieguez-Perez M, de Nova-Garcia M, Mourelle-Martinez M, Bartolome-Villar B. Oral health in children with physical (Cerebral Palsy) and intellectual (Down Syndrome) disabilities: Systematic review I. *J Clin Exp Dent* 2016:0–0. <https://doi.org/10.4317/jced.52922>.
- [78] Marchini L, Ettinger R, Hartshorn J. Personalized Dental Caries Management for Frail Older Adults and Persons with Special Needs. *Dent Clin North Am* 2019;63:631–51. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2019.06.003>.
- [79] Ship JA. Diabetes and oral health: an overview. *J Am Dent Assoc* 2003;134 Spec No. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2003.0367>.
- [80] Proctor GB, Shaalan AK. Salivary Gland Secretion. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, vol. 1. 6th ed., Elsevier; 2018, p. 813–30. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809954-4.00037-2>.
- [81] Amerongen AN, Veerman E. Saliva – the defender of the oral cavity. *Oral Dis* 2002;8:12–22. <https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2002.1o816.x>.
- [82] Nieuw Amerongen A V., Veerman ECI. Saliva - The defender of the oral cavity. *Oral Dis* 2002;8:12–22. <https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2002.1o816.x>.
- [83] Pappa E, Kousvelari E, Vastardis H. Saliva in the “Omics” era: A promising tool in paediatrics. *Oral Dis* 2019;25:16–25. <https://doi.org/10.1111/odi.12886>.
- [84] Ouhara K, Komatsuzawa H, Yamada S, Shiba H, Fujiwara T, Ohara M, et al. Susceptibilities of periodontopathogenic and cariogenic bacteria to antibacterial peptides, β -defensins and LL37, produced by human epithelial cells. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005;55:888–96. <https://doi.org/10.1093/jac/dki103>.
- [85] Critchlow D. Part 3: Impact of systemic conditions and medications on oral health. *Br J Community Nurs* 2017;22:181–90. <https://doi.org/10.12968/bjcn.2017.22.4.181>.
- [86] Pyati SA, Naveen Kumar R, Kumar V, Praveen Kumar NH, Parveen Reddy KM. Salivary Flow Rate, pH, Buffering Capacity, Total Protein, Oxidative Stress and Antioxidant Capacity in Children with and without Dental Caries. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 2018;42:445–9. <https://doi.org/10.17796/1053-4625-42.6.7>.
- [87] Medeiros MIbb, Mendes LI, Lopes Slp, Araújo EI, Silva Icg Da, Medeiros En, et al. Analysis of oral health conditions and risk factors for dental caries in patients with sickle cell disease. *RGO - Revista Gaúcha de Odontologia* 2018;66:232–8. <https://doi.org/10.1590/1981-863720180003000063408>.
- [88] Buzalaf MAR, Ortiz A de C, Carvalho TS, Fideles SOM, Araújo TT, Moraes SM, et al. Saliva as a diagnostic tool for dental caries, periodontal disease and cancer: is there

a need for more biomarkers? *Expert Rev Mol Diagn* 2020;20:543–55. <https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1743686>.

[89] Proksch E. Buffering Capacity. *Chemistry of pH/pH Measurement*, vol. 54. 1st ed., Karger; 2018, p. 11–8. <https://doi.org/10.1159/000489513>.

[90] Kivelä J, Parkkila S, Parkkila A-K, Rajaniemi H. A Low Concentration of Carbonic Anhydrase Isoenzyme VI in Whole Saliva Is Associated with Caries Prevalence. *Caries Res* 1999;33:178–84. <https://doi.org/10.1159/000016514>.

[91] Kivelä J, Parkkila S, Parkkila A, Leinonen J, Rajaniemi H. Salivary carbonic anhydrase isoenzyme VI. *J Physiol* 1999;520:315–20. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.t01-1-00315.x>.

[92] Kimoto M, Kishino M, Yura Y, Ogawa Y. A role of salivary carbonic anhydrase VI in dental plaque. *Arch Oral Biol* 2006;51:117–22. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2005.04.007>.

[93] Gudipani RK, Alkuwaykibi AS, Ganji KK, Bandela V, Karobari MI, Hsiao C-Y, et al. Assessment of caries diagnostic thresholds of DMFT, ICDAS II and CAST in the estimation of caries prevalence rate in first permanent molars in early permanent dentition—a cross-sectional study. *BMC Oral Health* 2022;22:133. <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02134-0>.

[94] Ekstrand KR, Gimenez T, Ferreira FR, Mendes FM, Braga MM. The International Caries Detection and Assessment System – ICDAS: A Systematic Review. *Caries Res* 2018;52:406–19. <https://doi.org/10.1159/000486429>.

[95] Pitts N, Ekstrand K. International Caries Detection and Assessment System (<sc>ICDAS</sc>) and its International Caries Classification and Management System (<sc>ICCMS</sc>) – methods for staging of the caries process and enabling dentists to manage caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2013;41. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12025>.

[96] Braga MM, Oliveira LB, Bonini GAVC, Bönecker M, Mendes FM. Feasibility of the international caries detection and assessment system (icdas-ii) in epidemiological surveys and comparability with standard world health organization criteria. *Caries Res* 2009;43:245–9. <https://doi.org/10.1159/000217855>.

[97] Wenzel A. Bitewing and Digital Bitewing Radiography for Detection of Caries Lesions. *J Dent Res* 2004;83:72–5. <https://doi.org/10.1177/154405910408301s14>.

[98] Rechmann P. Performance of laser fluorescence devices and visual examination for the detection of occlusal caries in permanent molars. *J Biomed Opt* 2012;17:036006. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.3.036006>.

- [99] Mejàre I, Axelsson S, Dahlén G, Espelid I, Norlund A, Tranæus S, et al. Caries risk assessment. A systematic review. *Acta Odontol Scand* 2014;72:81–91. <https://doi.org/10.3109/00016357.2013.822548>.
- [100] Jørgensen MR, Twetman S. A systematic review of risk assessment tools for early childhood caries: is there evidence? *European Archives of Paediatric Dentistry* 2020;21:179–84. <https://doi.org/10.1007/s40368-019-00480-2>.
- [101] Fisberg M, Kovalskys I, Gómez G, Rigotti A, Sanabria L, García M, et al. Total and Added Sugar Intake: Assessment in Eight Latin American Countries. *Nutrients* 2018;10:389. <https://doi.org/10.3390/nu10040389>.
- [102] Tellez M, Gomez J, Pretty I, Ellwood R, Ismail A. Evidence on existing caries risk assessment systems: are they predictive of future caries? *Community Dent Oral Epidemiol* 2013;41:67–78. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12003>.
- [103] Senneby A, Mejàre I, Sahlin N-E, Svensäter G, Rohlin M. Diagnostic accuracy of different caries risk assessment methods. A systematic review. *J Dent* 2015;43:1385–93. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.10.011>.
- [104] Evans RW, Feldens CA, Phantunvanit P. A protocol for early childhood caries diagnosis and risk assessment. *Community Dent Oral Epidemiol* 2018;46:518–25. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12405>.
- [105] Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *The Lancet* 2007;369:51–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60031-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60031-2).
- [106] BaniHani A, Deery C, Toumba J, Munyombwe T, Duggal M. The impact of dental caries and its treatment by conventional or biological approaches on the oral health-related quality of life of children and carers. *Int J Paediatr Dent* 2018;28:266–76. <https://doi.org/10.1111/ipd.12350>.
- [107] Ramos-Jorge J, Alencar BM, Pordeus IA, Soares ME da C, Marques LS, Ramos-Jorge ML, et al. Impact of dental caries on quality of life among preschool children: emphasis on the type of tooth and stages of progression. *Eur J Oral Sci* 2015;123:88–95. <https://doi.org/10.1111/eos.12166>.
- [108] Wagle M, D'Antonio F, Reierth E, Basnet P, Trovik TA, Orsini G, et al. Dental caries and preterm birth: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2018;8. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-018556>.
- [109] Vanobbergen J, Lesaffre E, García-Zattera MJ, Jara A, Martens L, Declerck D. Caries patterns in primary dentition in 3-, 5- and 7-year-old children: Spatial correlation and preventive consequences. *Caries Res* 2006;41:16–25. <https://doi.org/10.1159/000096101>.
- [110] Picco DDCR, Lopes LM, Rocha Marques M, Line SRP, Parisotto TM, Nobre dos Santos M. Children with a higher activity of carbonic anhydrase VI in saliva are more likely

to develop dental caries. *Caries Res* 2017;51:394–401. <https://doi.org/10.1159/000470849>.

[111] Picco DCR, Marangoni-Lopes L, Parisotto TM, Mattos-Graner R, Nobre-Dos-Santos M. Activity of carbonic anhydrase VI is higher in dental Biofilm of children with caries. *Int J Mol Sci* 2019;20. <https://doi.org/10.3390/ijms20112673>.

[112] Piekoszewska-Ziętek P, Szymański K, Olczak-Kowalczyk D. Polymorphism in the CAVI gene, salivary properties and dental caries. *Acta Odontol Scand* 2020;78:250–5. <https://doi.org/10.1080/00016357.2019.1694977>.

[113] Vasudevan A, Sridhar N, Bhat V, Bhat M. Correlation of Carbonic Anhydrase VI Enzyme, Total Proteins, Antioxidant Levels of Saliva and Dental Caries in Caries-Free and Caries-Active Children - A Case-Control Study. *Contemp Clin Dent* 2022;13:315–21. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_276_21.

[114] Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki de la AMM: principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. Ferney-Voltaire: Asociación Médica Mundial; [actualizada 2013; citado 2025 may 14]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policias-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>

[115] Fajardo Dolci GE. Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos. México, D.F.: Secretaría de Salud; 2012. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/220337/NOM-012-SSA3-2012.pdf> [consultado el 11 mayo 2025].

[116] Peña Nieto E, Coldwell PJ, Chuayffet Chemor E, María de las Mercedes. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México: Diario Oficial de la Federación; 2014. Disponible en: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5342624&fecha=23/05/2014 [consultado el 11 mayo 2025].

[117] Comisión Nacional de Bioética. Código de Núremberg: normas éticas sobre experimentación en seres humanos. México: Comisión Nacional de Bioética; 1997. https://www.conbioeticamexico.salud.gob.mx/descargas/pdf/normatividad/normatinternacional/2.INTL._Cod_Nuremberg.pdf [consultado el 30 Abril 2025].

[118] Comisión Nacional de Bioética. Informe Belmont: Principios y guías éticas para la protección de los sujetos humanos de investigación. México: Comisión Nacional de Bioética; 1979. https://www.conbioeticamexico.salud.gob.mx/descargas/pdf/normatividad/normatinternacional/10._INTL_Informe_Belmont.pdf [consultado el 11 mayo 2025].

- [119] Ekstrand KR, Gimenez T, Ferreira FR, Mendes FM, Braga MM. The International Caries Detection and Assessment System - ICDAS: A Systematic Review. *Caries Res* 2018;52:406–19. <https://doi.org/10.1159/000486429>.
- [120] Navazesh M, Kumar SKS. Measuring salivary flow. *The Journal of the American Dental Association* 2008;139:35S-40S. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0353>.
- [121] Michalke B, Rossbach B, Göen T, Schäferhenrich A, Scherer G, Hartwig A. Saliva as a matrix for human biomonitoring in occupational and environmental medicine [Biomonitoring Methods, 2015]. *The MAK-Collection for Occupational Health and Safety*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2016, p. 1399–479. <https://doi.org/10.1002/3527600418.bisalivae2115>.
- [122] Farah CS, Balasubramaniam R, McCullough MJ. *Contemporary Oral Medicine: A Comprehensive Approach to Clinical Practice*. Springer International Publishing; 2019. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-72303-7>.
- [123] Schaefer ME, Rhodes M, Prince S, Michalek SM, Mcghee JR. A Plastic Intraoral Device for the Collection of Human Parotid Saliva. *J Dent Res* 1977;56:728–33. <https://doi.org/10.1177/00220345770560070401>.
- [124] GC America Inc. Saliva-Check BUFFER: In vitro test for checking the quality, pH & buffering capacity of saliva. 2008. <https://www.gc.dental/america/products/operator/operative/preventive/saliva-check-buffer>
- [125] Bechir F, Pacurar M, Tohati A, Bataga SM. Comparative study of salivary ph, buffer capacity, and flow in patients with and without gastroesophageal reflux disease. *Int J Environ Res Public Health* 2022;19. <https://doi.org/10.3390/ijerph19010201>.
- [126] Cloud-Clone Corp. ELISA Kit for Carbonic Anhydrase VI (CA6): instruction manual. Katy (TX): Cloud-Clone Corp.; 2024.
- [127] Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent* 2001;85:162–9. <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>.
- [128] Regalado Ruiz LA, Del Ángel Escalona A, Serrano Sánchez C. Cronología de erupción dental de una población infantil del estado de Hidalgo, México. *An Antropol* 2023;57. <https://doi.org/10.22201/ia.24486221e.2023.81930>.
- [129] Rai A, Sundas S, Dhakal N, Khapung A. Assessment of Severity and Pattern of Early Childhood Caries Using ICDAS II Criteria: A Descriptive Cross-sectional Study. *Journal of Nepal Medical Association* 2024;62:639–45. <https://doi.org/10.31729/jnma.8782>.
- [130] Holguin-Loya B, Soto-Barreras U, Martinez–Martinez R, Martinez-Mata G, Sanin L, Nevarez-Rascon M, et al. Relationship between fluoride exposure and count of *Streptococcus mutans* in supragingival biofilm of mexican scholar children. *J Dent Sci* 2022;17:211–6. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2021.04.016>.

- [131] Al Dehailan L, Lippert F, González-Cabezas C, Eckert GJ, Martínez-Mier EA. Fluoride concentration in saliva and biofilm fluid following the application of three fluoride varnishes. *J Dent* 2017;60:87–93. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2017.03.005>.
- [132] González-Aragón Pineda AE, García Pérez A, García-Godoy F. Salivary parameters and oral health status amongst adolescents in Mexico. *BMC Oral Health* 2020;20:190. <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01182-8>.
- [133] Kumar A, Saraswati S, Rajendra R, Kiranmayi M, Swathi S, Dutta LD. Evaluation of Flow Rate, pH, and Buffering Capacity of Saliva in Children with Caries, Fluorosis, and Caries with Fluorosis. *Int J Clin Pediatr Dent* 2023;16:587–90. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2645>.
- [134] Ramezani J, Khaligh M, Ansari G, Yazdani Y, Mohammadi S. Association of salivary physicochemical characteristics and peptide levels with dental caries in children. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* 2021;39:189–95. https://doi.org/10.4103/JISPPD.JISPPD_251_20.
- [135] Maldupa I, Brinkmane A, Mihailova A. Comparative analysis of CRT Buffer, GC saliva check buffer tests and laboratory titration to evaluate saliva buffering capacity. *Stomatologija* 2011;13:55–61.

14. ANEXOS

14.1 Anexo 1 Concordancia y Fiabilidad

Código ICDAS	Revisión 1 FECHA:	Revisión 2 FECHA:	TOTAL
<i>Código 1</i>			
<i>Código 2</i>			
<i>Código 3</i>			
<i>Código 4</i>			
<i>Código 5</i>			
<i>Código 6</i>			

14.2 Anexo 2 Consentimiento informado



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA MAESTRIA EN TERMINAL EN PEDIATRIA

CONSENTIMIENTO VALIDO INFORMADO

El (la) suscribe _____ como padre (madre) del menor _____ quien está inscrito como paciente de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, manifiesto: Que he sido debidamente informado del proyecto de tesis de la alumna de la Maestría en Terminal en Pediatría de la misma universidad con nombre de **Elsa Daniela Angeles Ungson** con título "*Correlación entre el nivel de actividad de Anhídrido Carbónico IV salival y severidad de caries*" para la participación de mi hijo (a) en el estudio, el cual consiste en: realizar ICDAS y tomas de muestras salivales total y glandular previo de cualquier tratamiento de rehabilitación, sin alterar armonía general de mi hijo (a). A través del presente expreso mi consentimiento y autorización para:

- Proporcionar los datos necesarios para las pruebas de mi hijo (a).
- Evaluación de los datos obtenidos de las muestras salivales total y glandular.
- Estoy en el entendido que este estudio, no representa ningún riesgo para la salud de mi hijo (a).

Para los fines antes mencionados, estoy de acuerdo que la alumna **Elsa Daniela Angeles Ungson** de la Clínica de Pediatría de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, recabe, utilice y conserve los datos personales de carácter médico de mi hijo (a), por lo que la BUAP no podrá utilizar o difundir tales datos para propósitos distintos de los aquí autorizados.

Hago constar que no recibiré ningún beneficio económico y que se me ha dejado en claro que puedo tomar la decisión de dejar de participar en dicho proyecto en el momento que yo decida sin que esto repercuta en el trato hacia mi hijo (a), ni en la atención a su salud bucal.

Me comprometo a cumplir las instrucciones que se me han dado, tanto en forma verbal como escrita.

Declaro que no tengo duda y doy mi consentimiento para la participación de mi hijo (a) en el estudio.

Firma del Padre

Firma de la Madre

Firma del investigador

Firma del testigo

Firma del testigo

Lugar y Fecha: _____

Nota: El asentimiento informado se ha indicado su aplicación en niños mayores de 12 años, sin embargo, hay literatura que ha demostrado que se puede aplicar en niños desde 7 años. Sin embargo, la población de estudio es de edad de 3-7 años, es por esto que solo se explicará el procedimiento a realizar al paciente con consentimiento de sus padres.

15. Productos de la investigación

15.1 Participación en el Congreso Nacional e Internacional de la Facultad de Odontología UNAM-AMIC 2025

UNAM Facultad de Odontología
Secretaría de Extensión y Vinculación

CONGRESO NACIONAL E INTERNACIONAL DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA UNAM - AMIC 2025 Exposición de carteles

CONGRESO: Del 30 de abril al 3 de mayo 2025, WTC, Ciudad de México

AUTOR: ANGELES UNGSON, ELSA DANIELA

DIRECCIÓN:

Calle: FELIX CONTRERAS Y 19
No. 1810, Interior
Código Postal: 83448
Colonia: RESIDENCIAS
Ciudad: SAN LUIS RIO COLORAD
Estado: SONORA
País: MÉXICO

DATOS ACADÉMICOS:

Universidad: BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
Facultad: FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

CONTACTO:

Teléfono: 6531367550

E-mail: elsa.angeles@uabc.edu.mx



Congreso en el que presenta: CONGRESO NACIONAL E INTERNACIONAL DE FACULTAD DE ODONTOLOGÍA UNAM-AMIC 2025

Presentación: CARTEL

Área de conocimiento: BIOLOGÍA BUCAL

COAUTOR(ES):

CRISTIAN DIONISIO ROMÁN MÉNDEZ - BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA, FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA, MÉXICO
GISELA NATALY RUBIN DE CELIS QUINTANA - BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA, FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA, MÉXICO
NILA CLAUDIA GIL ORDUÑA - BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA, FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA, MÉXICO
AMAURY DE JESUS POZOS GUILLEN - UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ, FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA, MÉXICO

COAUTORES: CUATRO

PALABRAS: 302

RESUMEN:

ASOCIACIÓN ENTRE ANHIDRASA CARBÓNICA VI SALIVAL Y SEVERIDAD DE CARIES SEGÚN LA CLASIFICACIÓN ICDAS

INVESTIGACIÓN

INTRODUCCIÓN: La caries es una enfermedad multifactorial con alta prevalencia en la infancia. La saliva desempeña un papel esencial en su prevención mediante mecanismos como el sistema buffer. La anhidrasa carbónica VI (CA VI) es una enzima salival involucrada en la neutralización de ácidos mediante la producción de bicarbonato, contribuyendo al mantenimiento del pH bucal. Las herramientas actuales de evaluación de riesgo de caries evalúan el flujo salival y el pH, sin embargo, no contemplan otros componentes salivales con posible valor diagnóstico.

OBJETIVOS: Asociar la concentración salival de CA VI y la severidad de caries.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizó un estudio transversal en niños de 3 a 7 años atendidos en la Clínica de Estomatología Pediátrica de la FEBUAP. Se recolectaron muestras de saliva total y de glándula parótida para determinar el pH, la capacidad buffer y la concentración de CA VI (ensayo ELISA).

RESULTADOS: Se evaluaron 88 niños, clasificados según la severidad de caries con base en ICDAS: sanos, con lesiones en esmalte y con lesiones en dentina. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de pH salival ni en la capacidad buffer entre los grupos, independientemente del método de medición. Sin embargo, la concentración de CA VI fue mayor en los niños con lesiones en dentina. Lo que sugiere una posible relación entre niveles elevados de CA VI y la progresión de las lesiones cariosas.

CONCLUSIONES: Aunque las guías de riesgo de caries se enfocan en el flujo salival y el pH, en este estudio se encontró que el pH fue similar en niños sanos y con caries. En contraste, la concentración de CA VI fue mayor en los casos con caries en dentina, mostrando una tendencia positiva como posible marcador de progresión. Estos hallazgos sugieren que es necesario considerar otros componentes salivales en la evaluación del riesgo de caries.

NOTAS:

- Recuerda que este es solamente un comprobante de registro de tu resumen, de ninguna manera te asegura un lugar en el evento.
- Recuerda presentarte al evento con copia del registro, comprobante de pago e identificación.

www.odonto.unam.mx

CONGRESO NACIONAL E INTERNACIONAL DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA UNAM-AMIC

Registrado el: Lunes 10 de marzo del 2025 a las 15:25:00

1 of 1

Fecha de impresión de este documento: Fecha: 16/05/2025 Hora: 18:28:06

ID: CNEIUA-02203-T2-C4-E1-2025-13