

140
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

"Relación del *Streptococcus mutans*
y consumo de azúcares en niños
de 6 a 12 años con desayuno
controlado".

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A :
JAVIER MARTIN HUERTA SERRANO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1992.



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

RESUMEN.	1
INTRODUCCION	2
ANTECEDENTES	3
OBJETIVOS.	13
MATERIAL	14
METODO:	
MENU	16
PREPARACION DE SOLUCIONES Y MEDIOS DE CULTIVO	19
TOMA DE MUESTRAS Y TRANSPORTE.	20
PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO	21
RESULTADOS	24
DISCUSION	35
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFIA	38

INDICE TABLAS

TABLA 1 ESQUEMA BIOQUIMICO PARA LA SEPARACION DEL <i>Streptococcus mutans</i> EN SEROTIPOS	5
TABLA 2 PORCENTAJE DE CARBOHIDRATOS EN ALIMENTOS	12
TABLA 3 CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS EN ALIMENTOS	13
TABLA 4 MENUS DEL DESAYUNO DE LA ESCUELA.	16
TABLA 5 MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS PARA <i>S. mutans</i>	26
TABLA 6 DISTRIBUCION POR SEXO DE ACUERDO AL LUGAR DONDE DESAYUNAN.	26
TABLA 7 CONTEO DE <i>Streptococcus mutans</i>	29
TABLA 8 PROMEDIO DE UFC POR EDAD Y SEXO	31
TABLA 9 PROMEDIO DE UFC POR ESCUELA Y GRUPO DE EDAD.	31
TABLA 10 HIGIENE BUCAL DESPUES DEL DESAYUNO	34

FOTOGRAFIAS

FOTO 1 PLACA DE MSB CON DILUCION 10^{-1}	22
FOTO 2 PLACA DE MSB CON DILUCION 10^{-2}	23
FOTO 3 PLACA DE MSB CON DILUCION 10^{-3}	23

FIGURAS

FIGURA 1 PORCENTAJE DE POSITIVAS Y NEGATIVAS PARA <i>S. mutans</i>	25
FIGURA 2 PORCENTAJE DE MUESTRAS POSITIVAS PARA <i>S. mutans</i>	27
FIGURA 3 CONTEO DE <i>S. mutans</i>	30
FIGURA 4 PROMEDIO DE UFC POR EDAD Y SEXO.	32
FIGURA 5 PROMEDIO DE UFC POR LUGAR Y GPO. DE EDAD.	33

RESUMEN

De un grupo de 1229 niños se seleccionaron a 191 niños a los cuales se recolectó placa dentobacteriana supragingival de la cara vestibular del primer molar superior derecho, colocándolas en medio de transporte RTF y llevadas al laboratorio en una jarra Gas pak; donde las muestras fueron sonificadas, y efectuando diluciones de 10^{-1} a 10^{-6} en buffer de fosfatos, sembrando únicamente las diluciones de 10^{-1} a 10^{-3} en MSB agar e incubadas en condiciones anaeróbicas a 37°C . por 72 horas, posteriormente fueron observadas, identificadas y cuantificadas. 173 muestras fueron positivas, de las cuales se encontró *Streptococcus mutans* en 107 (56.02 %); en 66 (34.55 %) no se encontró *S. mutans* y 18 (9.42 %) fueron negativas para el desarrollo de bacterias. El *S. mutans* fue aislado en el 50.72 % de los niños que desayunaban en la escuela, 70.72 % de los que tomaban el desayuno de su casa 45.4 % de los que tomaban ambos desayunos y en el 81 % de los que ayunaban. En el análisis estadístico se comparó el grupo de edad de 9 a 12 años de la escuela, el cual tuvo un promedio de 4.62 UFC con el grupo de edad de 6 a 8 años los cuales tenían 38.38 UFC en promedio, encontrando una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.006$); al igual fueron comparados los niños que tenían una higiene bucal posterior al desayuno de la casa, teniendo éstos 4.50 UFC en promedio con los que no, que tuvieron 61.72 UFC en promedio, obteniendo una diferencia significativa ($p=0.005$). Es recomendable que un programa de prevención cuente con un control en la ingesta de carbohidratos y reforzarlo en cuanto a la higiene bucal en niños.

INTRODUCCION

Durante el trabajo clínico en licenciatura se puede ver que el problema principal dentro de la salud bucodental en los pacientes sigue siendo la caries dental por lo cual es importante una educación en cuanto a los hábitos de higiene y alimenticios; ya que se ha estudiado y comprobado que son la base de la prevención y reducción de la caries dental y otros problemas como puede ser la enfermedad periodontal; si se iniciara un control en la ingesta de carbohidratos, acompañado de un programa preventivo durante la formación de hábitos del niño, se obtendría una disminución al igual que lo reportado en otros países en la incidencia de caries, así como la disminución del número de *Streptococcus mutans*, principal microorganismo etiológico de la caries dental.

Es conveniente tratar el problema desde su origen con programas preventivos y no cuando es demasiado tarde con tratamientos restauradores, algunas veces dolorosos y mutilantes.

De ahí la inquietud para la realización de este trabajo de investigación.

"La caries dental es una infección;
no un hoyo en el diente" -Massler¹.

ANTECEDENTES

La caries dental es una enfermedad multifactorial en la que existe interacción de tres factores principales: el huésped (saliva y dientes) la microflora y el sustrato. Además de estos factores se debe tener en cuenta el tiempo, así mismo se necesita la acción de todos los factores²; es un proceso patológico de destrucción de los tejidos dentales causado por microorganismos (Latín caries - podredumbre) con anterioridad se han propuesto varias teorías en cuanto a la caries dental, se decía en el siglo VII a.c. que se trataba de gusanos, ésta fue la primera teoría que se tenía de la caries. En Grecia Hipócrates propuso que se trataba de humores; en el siglo XVIII fue propuesta la teoría vital; en 1819 Parmlly propuso que se trataba de un agente químico y se le llamó teoría química³; Erdl en 1843 propuso la teoría parasitaria o séptica; Miller en 1890 propuso la teoría quimioparasitaria; en 1944 Gottlieb, la teoría proteolítica, por último fue propuesta la teoría proteólisis-quelación², la caries dental es una infección microbiana que afecta a los tejidos dentales y se caracteriza por la desmineralización de la porción inorgánica y la destrucción de la sustancia orgánica del diente⁴. La mediación bacteriana tiene lugar a través de la producción de ácidos orgánicos por microorganismos bucales, a partir de los carbohidratos localmente disponibles como sustratos. La dieta del sujeto proporciona la fuente principal de tales carbohidratos⁵.

Newbrum en 1978 demostró que el *Streptococcus mutans* era el principal agente etiológico de la caries dental en humanos², el cual con la glucosiltransferasa sintetiza

glucanos solubles e insolubles y glucoproteínas a partir de la sacarosa éstos son esenciales para la agregación y adherencia de la cual depende la fase de colonización del *S. mutans*⁵. Este es en realidad un grupo de cuatro especies separadas que difieren en serotipo y en el contenido de guanina más citosina del DNA, pero todos tienen la habilidad de producir caries dental, por la fermentación de carbohidratos⁶.

Parnly en 1819 observó que la caries comenzaba en los lugares de los dientes en los cuales existía un estancamiento de alimento y que ésta lesión progresaba hacia adentro de los tejidos hasta llegar a pulpa, por lo que concluyó que la caries atacaba desde fuera y especulaba sobre un agente químico implicado³. En 1881 Underwood encontró que la caries era producida por bacterias; en 1882 Elliot propuso que los ácidos causaban la caries; Sieberth en 1900 fue el primero en aislar Estreptococos de la dentina cariada, posteriormente Goadby en 1903 encontró con frecuencia Estreptococos en la porción anterior de la dentina cariada; en 1924 Clarke descubrió Estreptococos en lesiones cariosas profundas y decidió darle el nombre de *Streptococcus mutans*; Miller y Clarke, en el mismo año, aislaron *S. mutans* que se consideró una posible causa de caries dental⁷; en 1959 Orland demostró que los Estreptococos pueden causar la caries dental en ratas libres de gérmenes⁶, y fue confirmado en 1964 por Carlsson⁸. La primera serotipificación fue realizada por Coykendal en 1970⁶, en el mismo año Shklar y Keene lograron la subdivisión del *S. mutans* en cinco serotipos, encontrándose en 194 hombres de la naval americana los cinco serotipos, predominando el tipo g. Los tipos d y e fueron ocasionalmente aislados, el a fue raramente aislado y el h no fue aislado⁹. Posteriormente Perch en 1974 agregó los biotipos f y g dividiéndolos en cinco serotipos, de acuerdo con su actividad bioquímica

(Tabla 1) éstos tuvieron antígenos específicos representando a los serotipos c, e y f (36 al 38 %) en su DNA tenían guanina y citosina y se denominaron como *S. mutans*¹¹. En 1977 Coykendall demostró que el biotipo I estaba representado por los serotipos c, e y f, y que el biotipo II estaba representado por el serotipo h y lo llamó *S. rattus*; el biotipo III por el serotipo a y lo llamó *S. cricetus* y el biotipo IV representado por los serotipos d y g y lo denominó *S. sobrinus*, el biotipo V por el serotipo e. Okahashi en 1984 y Koga en 1986 obtuvieron tres tipos del serotipo c del *Streptococcus mutans* y éstos difirieron en actividad de la glucosiltransferasa y la fructosiltransferasa⁶.

TABLA 1. Esquema bioquímico para la separación de *S. mutans* en serotipos¹⁰.

prueba bioquímica	serotipos				
	<u>a</u>	<u>b</u>	<u>c</u>	<u>d</u>	<u>e</u>
manitol	+	+	+	+	+
sorbitol	+	+	+	+	+
rafinosa	+	+	+	-	-
melibiosa	+	+	+	-	-
NH ₃ de L- arginina	-	+	-	-	-
manitol + 2 unid/ml de bacitracina	-	+	+	+	+

En 1991 en un estudio realizado en México sobre los serotipos más frecuentes en niños de la ciudad e indios Mazahuas, se encontró caries en 90 % en los primeros y 82 %

en los Mazahuas; de los niños que tenían caries se encontró *Streptococcus mutans* en un 95 % en los niños de ciudad y en 75% en los indios Mazahuas. Los serotipos d y g fueron aislados de algunos niños, pero mucho más frecuentes los serotipos c, e y f, de los 38 niños que se les encontró la bacteria y fue identificada, 17 tuvieron más de un serotipo y se encontró que era más frecuente el *Streptococcus mutans* que el *S. sobrinus*, así mismo en este estudio se obtuvo el índice de caries y se comparó con otros estudios anteriores; en 1978, en Monterrey, se encontró DMFT de 5.3, 6.3 y 7.3 en niños de 12, 13 y 14 años respectivamente. En 1980 un estudio hecho en diferentes áreas de México con un grupo de niños de la misma edad mostraron un def^t de 5.3 y un DMFT de 0.98. En 1981 igual en México, el DMFT de 257 niños de 12 años fue 10.7, en el mismo estudio un grupo de 124 niños de 14 años tuvieron un DMFS de 13.8. En 1985 en un estudio hecho en niños mexicanos de Tepepan, mostraron 6.8 (def^t) y un DMFT de 0.57, en 1991 se encontró en 170 niños de los cuales la mitad eran Mazahuas y los otros niños de la ciudad de México, un DMFT de 3.57+/- 3.17 para los primeros y 5.98+/- 3.54 para los niños de la ciudad, el dft fue 3.03 para los de la ciudad y 2.2 para los Mazahuas¹².

La sacarosa es un disacárido formado por una unidad de fructuosa y una unidad de glucosa. En 1973 Grenby encontró que la sacarosa fue más cariogénica que la glucosa en ratas gnotobióticas; en 1975 Gibbons y Van Houte demostraron que una dieta con carbohidratos es importante en la aparición de caries dental¹³, ya que los azúcares son fermentados por bacterias cariogénicas para producir ácidos orgánicos, los cuales causan la caries dental. Se ha demostrado que la placa dentobacteriana, cubriendo lesiones cariosas, acelera el proceso ya que contiene altos niveles de *S. mutans* y lactobacilos^{14, 15}.

En 1984 Horton y Jacob demostraron que el más cariogénico de los azúcares era la sacarosa, luego la glucosa y por último la fécula de maíz¹³.

La adherencia del *Streptococcus mutans* a la superficie del diente, comprende dos etapas; la inicial que es reversible por una interacción entre el organismo y la saliva en la superficie del diente y otra etapa irreversible mediada por glucanos¹³. Inicialmente el *S. mutans* es absorbido en la película, la cual está constituida por sacarosa en una forma independiente que cubre la superficie del diente, presumiblemente facilitada por cationes divalentes y depende de las glucoproteínas salivales depositadas en la superficie del diente y una vez que el Estreptococo se ha adosado a la superficie del diente es iniciada la fase de adherencia la cual es mediada por la síntesis de glucanos insolubles en agua que no sólo lo fijan a la superficie del diente, sino que también se unen a las proteínas en la superficie celular del *Streptococcus mutans*, facilitando la agregación o aglutinación del *S. mutans*. Todo esto es el resultado de la unión de la sacarosa y la placa dentobacteriana, lo cual facilita la invasión de otros microorganismos que por sí solos no dañarían la superficie del diente, pero son capaces de producir ácidos los cuales dañan al diente. En la presencia de superficies dentales con placa dentobacteriana y presencia de grandes cantidades de sacarosa, el *S. mutans* no sólo metaboliza la sacarosa para producir ácido láctico sino que también forma polisacárido extracelular e intracelular como reserva, el cual puede ser metabolizado durante los períodos de ayuno, cuando no hay sacarosa disponible. Todas estas actividades metabólicas y el ácido láctico provocan la desmineralización del diente, provocando la caries dental⁵.

El glucano insoluble en agua forma parte muy importante en el aumento de la caries en superficies lisas¹⁸, y la síntesis de éste por el *Streptococcus mutans* mediante la glucosiltransferasa a partir de la sacarosa es esencial para el proceso de adherencia¹⁷. Evidencias en roedores y en modelos con primates indican que la presencia de anticuerpos en saliva y suero de *S. mutans* tiene un potencial para afectar la implantación y la acumulación de este microorganismo en la superficie del diente¹⁸; la implantación de *S. mutans* fue lograda cuando los dientes de los sujetos a prueba fueron pulidos con pómez y a los sujetos les fueron administradas fuertes ingestas de sacarosa¹⁹.

En 1978 Klock y Krasse en 1979, indicaron que la cuantificación de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus mutans* por mililitro de saliva tiene una gran importancia en la caries activa y reportaron como de alto riesgo un millón por mililitro de saliva; en 1979 Köhler y Bratthall desarrollaron una técnica simplificada para estimar la cantidad de *S. mutans* en saliva, la cuantificación de este microorganismo en muestras de saliva ha sido propuesta como una prueba diagnóstica para identificar pacientes de alto riesgo de caries dental, así como para planear y monitorear su terapia¹⁹.

Sheinham en 1983 afirmó que la severidad de la caries en la población de 12 años de edad en el mundo subdesarrollado sobrepasó a la del mundo industrializado. Lappe y Collins propusieron en 1980 que un factor importante de la caries en México son las bebidas altamente cariogénicas, que lo son tanto por su contenido de sacarosa como por su acidez y la frecuencia de su consumo; casi cinco botellas de refresco son consumidas en promedio por habitante/senana en México²⁰. En un estudio en Europa se confirmó la

reducción de caries ya que en 1973 se encontró un 96% y en 1984 un 77 % en Suecia, como causa de esta reducción de caries, algunos dicen que el fenómeno es un incremento en la resistencia en la superficie del diente, causado por el aumento del uso de fluoruros, todo ésto acompañado por cambios en los hábitos de dieta e higiene bucal, también ha sido sugerido por el uso de antibióticos y otras drogas que han afectado a los microorganismos cariogénicos y ha causado una reducción en la prevalencia de caries²¹. En un estudio que se realizó en Estados Unidos sobre los niveles y los biotipos del *Streptococcus mutans*, en estudiantes Egipcios y Arabes Sauditas quienes, después de vivir cuatro meses se observó un significativo incremento en los niveles de placa, de 6.1 % que tenían en dos meses a 13.2 % en cuatro meses, pero no encontraron una relación significativa entre el aumento y el consumo de azúcares, dato que no fue estadísticamente significativo²².

El concepto de la baja cariogenicidad es basado en las observaciones de que la caries está fuertemente correlacionada con el consumo de sacarosa y la incidencia de caries es más baja cuando la sacarosa es omitida de la dieta¹⁴.

La habilidad de la placa dentobacteriana para producir un subsecuente incremento en el pH de la placa podría ser también importante en la determinación de su cariogenicidad, pero es también una evidencia que los Estrptococos están dispuestos a consumir el ácido láctico producido por su propia glucólisis, una vez que el sustrato de azúcar ha sido metabolizado, el consumo de ácido láctico fue consistentemente encontrado en bajas concentraciones de glucosa y especialmente de fructuosa, lo que no sucedió con la sacarosa, donde sí se encontraron altas concentraciones de ácido láctico²³.

Dentro de las acciones para reducir la formación de ácido se encuentran las siguientes:

- a) Uso de azúcares no fermentables.
- b) Inhibir la formación de placa dentobacteriana²³.
- c) Uso de agentes antibacterianos minerales u orgánicos como pastas dentales, fluoruro estanoso y colutorios.
- d) Azúcares análogos los cuales inhiben la fermentación del azúcar cariogénico²⁴.

Un gran número de sustitutos de azúcar han sido probados con el objeto de ver su relación con la caries dental, muchos estudios clínicos en humanos durante los pasados 15 años han sugerido que el consumo de xilitol, el cual es un endulcorante calórico que en sí es un alcohol azúcar, químicamente un pentiol (contiene cinco átomos de carbono), y su fórmula es $C_5H_{12}O_5$ ⁽²⁵⁾, que se extrae comercialmente del abedul (azúcar de abedul); no se ha observado fermentado por el *Streptococcus mutans*³. Schanon dijo que no podía ser metabolizado a ácidos por microorganismos bucales o por placa dentobacteriana in vivo y se afirma que es un anticariogénico y que la acumulación de placa dentobacteriana después de su consumo se reduce^{20 y 26}, y es asociado con una significativa reducción de la caries dental en niños al igual que en los jóvenes^{26 y 27}. Otros estudios también han demostrado que

el consumo de xilitol afecta ciertas propiedades microbiológicas y químicas de saliva y placa dentobacteriana; algunos estudios indicaron que xilitol en boca reduce el metabolismo de ácidos y estimula ciertos mecanismos de defensa en saliva²⁶.

El xilitol usado en goma de mascar con un consumo de 0.9 a 20 gramos de dosis diaria puede significativamente incrementar la eficacia de programas preventivos existentes²⁶.

Los resultados indican que el consumo de 2 a 3 gomitas de xilitol al día, que corresponden de 7 a 10 gramos diarios de xilitol por niño, redujo la incidencia de caries dental en un 30 a 80% comparado con niños controlados quienes no recibieron chicles como parte del estudio. Se sugiere que el consumo de xilitol tiene una asociación con el decremento de la invertasa y la actividad de dextranasa en la saliva²⁶.

TABLA 2.- Porcentaje de carbohidratos en alimentos²⁸

Carbohidratos (%)	Alimentos
100 - 91	Azúcar morena y blanca.
90 - 81	Hojuelas de maíz, miel, malvavisco y cereales de arroz.
80 - 71	Galletas, dátiles, dulces de chocolate, cereal de avena, hojuelas de trigo.
70 - 61	Jarabe de chocolate y mermeladas.
60 - 51	Pastel, barras de chocolate, sólidos de leche descremada en polvo y pan blanco.
50 - 41	Papas fritas, bollos y pan de trigo entero.
40 - 31	Empanadas.
30 - 21	Plátanos, macarrones y tallarines, arroz espaguetis y papas blancas.
20 - 11	Manzana, maíz, uvas, helados, peras y guisantes.
10 - 0	Hígado de res, brócoli, mantequilla, zanahorias, queso cheddar, huevo, melón, leche, naranja, melocotón, tomates.
Ninguno	Carne de res, cordero, salmón, pollo, aceites, ternera, grasas, puerco.

TABLA 3.- Contenido de carbohidratos en alimentos comunes²⁸.

Alimentos	Monosacáridos		Disacáridos			Polisacáridos		
	* Gluc. g/100g	Fruc. g/100g	Sac.	Mal. g/100g	Lac.	Alm. g/100g	Dex. g/100g	Cel.
Manzana	1.7	5.0	3.1	-	-	0.6	-	0.4
Frijol	-	-	-	-	-	35.2	3.7	3.1
Maíz	0.5	-	0.3	-	-	14.5	0.1	0.6
Jarabe de maíz	21.1	-	-	26.4	-	-	34.7	-
Uvas	4.8	4.3	0.2	-	-	-	-	-
Miel	34.2	40.5	1.9	-	-	-	1.5	-
Jaleas	-	-	50.0	-	-	-	-	-
Jarabe de acre	-	-	62.9	-	-	-	-	-
Leche entera	-	-	-	-	4.9	-	-	-
Melazas	8.8	8.0	53.6	-	-	-	-	-
Naranjas	2.5	1.8	4.6	-	-	-	-	0.3
Guisantes								
verdes	-	-	5.5	-	-	4.1	-	1.1
maduros secos	-	-	6.7	-	-	38.0	-	5.0
Papa blanca	0.1	0.1	0.1	-	-	17.0	-	0.4
Arroz	2.0	-	0.4	-	-	72.9	0.9	0.3
Harina de trigo	-	-	0.2	0.1	-	68.8	5.5	-

* glu. glucosa; fruc. fructuosa; sac. sacarosa; mal. maltosa; lact. lactosa; alm. almidón; dex. dextrinas y cel. celulosa.

OBJETIVO

Determinar la frecuencia de *Streptococcus mutans*, su relación con el consumo de carbohidratos en niños de 6 a 12 años con desayuno controlado.

MATERIAL

Aparatos:

Agitador magnético (super mixer).

Autoclave vertical.

Báscula granataria.

Bomba de vacío de 0.01 ml, (Feli).

Cuenta colonias.

Jarra gas pack (BBL).

Medidor de pH digital, (Beckman).

Microscopio estereoscópico.

Sonicador microti F modelo W 185D (Ultrasonic Ind).

Sistema anaeróbico (Forma Scientific).

Cristalería:

Cajas de petri (pyrex).

Equipo Millipore.

Frascos con tapa de vaquelita de 10 ml.

Matraces de bola y Erlenmeyer.

Probeta.

Pipetas de 1 ml, 5 ml y 10 ml.

Tubos de ensaye.

Varillas de vidrio dobladas a 90°.

Instrumental:

Excavadores del #5.

Medios de cultivo:

MS agar (Difco).

Reactivos y soluciones:

Buffer de fosfatos 0.067 molar con pH de 7.2.

Generador de anaerobiosis Gas Pak (BBL y Oxoid).

Hidróxido de sodio.

Medio de transporte RTF.

Sacarosa (Difco).

Solución de bacitracina con 200 unidades.

Solución de telurite de chapman al 1% (Difco).

Otros:

Agua bidestilada.

Algodón.

Cubre bocas.

Detergente dextran.

Filtros de membrana millipore.

Gasa.

Guantes de látex.

Indicador de anaerobiosis Oxoid.

Mechero de bunsen.

Mezcla de gases H_2 5%, CO_2 10 % y N_2 85 %.

Nitrógeno alta pureza.

METODO

La toma de muestras se realizó en 191 niños seleccionados aleatoriamente en un grupo de 1229 niños de la escuela primaria Luis Cabrera (escuela asistencial de la Secretaría de Hacienda y Crédito Público).

El desayuno de los niños estaba dividido en 20 diferentes menús con una cantidad total de 1284.84 grs. de carbohidratos cada cuatro semanas y el promedio diario es de 64.24 grs. (DS = 26.69) para los niños que toman el desayuno de la escuela (TABLA 4).

TABLA 4.- MENUS DEL DESAYUNO DE LA ESCUELA.

Menú # 1			Menú 2		
		*			*
jugo de uva	200 ml.	37	azúcar	20 gr.	20
hojuelas de maíz	30gr.	24	tortilla	1 pza.	8
galletas	50 gr.	37	arroz	20 gr.	16
tortilla	1 pza.	8	amaranto	20 gr.	4.5
azúcar	10 gr.	10			
TOTAL		116			48.5
Menú 3			Menú 4		
azúcar	30 gr.	30	azúcar	10 gr.	10
jugo de manzana	200 ml.	37	tortilla	3 pzas	24
polvo de flan	15 gr.	5	gelatina	15 gr.	2
tortilla	1 pza	8			
TOTAL		80			36

cont. Tabla 4

Menú 5

chocolate en polvo	10 gr.	4
tortilla	2 pza	16
sopa de pasta	15 gr.	11
azúcar	30 gr.	30

TOTAL

61

43

Menú 6

azúcar	20 gr.	20
tortilla	2 pzas	16
sopa	10 gr.	7

Menú 7

tortilla	4 pzas	36
polvo para gelatina	15 gr.	2
alegría	20 gr.	4.5
azúcar	10 gr.	10

TOTAL

52.5

34

Menú 8

soya	10 gr.	3
azúcar	15 gr.	15
tortilla	2 pzas	16

Menú 9

chocolate	10 gr.	4
tortilla	2 pzas	16
spaguetti	20 gr.	15
polvo para flan	15 gr.	5
azúcar	15 gr.	15

TOTAL

55

75

Menú 10

azúcar	20 gr.	20
tortilla	3pzas	24
gelatina	15 gr.	2
sopa	20 gr.	15
ate	30 gr.	14

Menú 11

jugo de piña	150 ml.	21
hojuelas de maiz	30 gr.	24
azúcar	15 gr.	15
leche condensada	15 ml.	8
sopa de pasta	20 gr.	15
tortilla	1 pza	8

TOTAL

91

32

Menú 12

chocolate	10 gr.	4
tortilla	2 pzas	16
gelatina	15 gr.	2
azúcar	10 gr.	10

cont. Tabla 4.

Menú 13

mermelada de fresa	15 gr.	10
polvo para flan	15 gr.	5
tortilla	4 pzas	32
sopa de pasta	20 gr.	15
azucar	10 gr.	10

TOTAL 72

Menú 14

azúcar	30 gr.	30
tortilla	3 pzas	24
gelatina	15 gr.	2

TOTAL 56

Menú 15

chocolate de mesa	10 gr.	4
piloncillo	10 gr.	10
maizena	3 gr.	2
tamales	2 pzas	73.84
azúcar	20 gr.	20
miel	15 ml.	15
flan	15 gr.	5
tortilla	1 pza	8

TOTAL 137.84

Menú 16

chocolate	10 gr.	4
tortilla	2 pzas	16
fideo	20 gr.	15
pan molido	20 gr.	12
leche cond	10 ml	8
azúcar	10 gr.	10

TOTAL 65

Menú 17

azúcar	20 gr.	20
tortilla	3 pzas	24
chocolate	5 gr.	2
sopa	20 gr.	15

TOTAL 61

Menú 18

azúcar	20 gr.	20
flan	15 gr.	5
tortilla	2 pzas	16
pastel	50 gr.	25

TOTAL 66

cont. Tabla 4.

Menú 19			Menú 20		
chocolate barra	10 gr.	4	azúcar	20 gr.	20
tortilla	2 pzas	16	tortilla	3 pzas	24
azúcar	10 gr.	10	sopa	20 gr.	15
			ate	30 gr.	14
TOTAL		30			73

* Gramos de carbohidratos.

PREPARACION DE SOLUCIONES Y MEDIOS DE CULTIVO

I. Medio de transporte RTE; para el cual se utilizaron dos soluciones de sales minerales stock, la primera contenía K_2HPO_4 y la segunda $NaCl$, $(NH_4)_2SO_4$, KH_2PO_4 , y $MgSO_4$; se mezclaron las dos soluciones y se les agregó EDTA, Na_2CO_3 , ditiotreitol, resazurin y se aforó con agua bidestilada²⁹.

II. Buffer de fosfatos 0.067 molar con pH de 7.2, para el cual se utilizó fosfato de sodio monobásico, y dibásico primero se colocó el fosfato monobásico en un matraz y se disolvió con un poco de agua bidestilada, después se agregó el dibásico y antes de aforarlo se ajustó el pH requerido para lo cual se ocupó un medidor digital de pH (Beckman) agregándole hidróxido de sodio y se aforó.

III. Medio de cultivo MSB agar (*mitis salivarius bacitracina*), el cual se preparó de acuerdo a las indicaciones del fabricante, agregándole tellurite, sacarosa al 15 % y bacitracina al 20 % ⁽³⁰⁾.

TOMA DE MUESTRAS Y TRANSPORTE

Las muestras fueron tomadas a las 10:30 am, aproximadamente tres horas después de haber desayunado, a cada niño se le aplicó un cuestionario que contenía los siguientes datos: nombre, edad, sexo, lugar de desayuno, higiene bucal posterior al desayuno, y se le asignó una clave para el procedimiento de laboratorio, la muestra fue tomada de placa dentobacteriana supragingival de la cara vestibular del primer molar superior con una cucharilla del número 5 y colocada en medio de transporte RTF²⁹.

El RTF fue esterilizado por medio de filtración en un millipore, utilizando filtros de membrana de 0.45 micrones y se colocaron 2 ml. frascos de 10 ml., previamente esterilizados en autoclave, posteriormente fueron prereducidos, en el sistema anaeróbico Forma scientific con 85 % N₂, 10 % CO₂, 5 % H₂ a 37°C durante 48 hrs., antes de la toma de muestras. Las cuales fueron colocadas en una jarra de Gas Pak junto con un sobre generador e indicador de anaerobiosis y transportadas al laboratorio. Una vez en el laboratorio las muestras fueron procesadas aproximadamente 2 horas después de haber sido recolectadas.

PROCEDIMIENTO DE LABORATORIO

I. Sonificación, con un sonificador (microti f, modelo W185D Ultrasonic Ind.) por 30 segundos.

II. Diluciones, se tomó 1 ml de la muestra para preparar diluciones de 10^{-1} a 10^{-6} en buffer de fosfatos 0.067 molar con pH de 7.2. Para la dilución de 10^{-1} se tomó 1 ml. de la muestra y se colocó en un tubo de ensaye el cual contenía 9 ml. de buffer de fosfatos, previamente esterilizado en autoclave, y de éste se tomó 1 ml. para colocarlo en un segundo tubo el cual también contenía 9 ml. de buffer de fosfatos para la dilución de 10^{-2} y así hasta 10^{-6} , cada una de las diluciones fue homogeneizada con la ayuda de un agitador magnetico (super mixer).

III. Sembrado, De los tubos de las diluciones de 10^{-1} a 10^{-3} se tomó 0.1 ml. depositandolo en una placa de MSB agar (Mitis salivarius bacitracina)³⁰ dispersandolo con una varilla de vidrio doblada en "L".

IV. Incubación, las placas sembradas se incubarán en condiciones de anaerobiosis (85 % N_2 , 10 % CO_2 , 5 % H_2) a 37°C durante 72 horas, para lo cual se utilizó el sistema anaeróbico (forma scientific).

V. Observación e identificación, se revisaron las placas para ver el desarrollo y se examinaron con un microscopio estereoscópico para la identificación de *S. mutans* de acuerdo a la morfología de las colonias.

VI. Conteo, éste se llevó a cabo en un cuentacolonia.

Posteriormente se almacenaron los datos en la computadora; para la realización del análisis estadístico fue aplicada la prueba "T student".

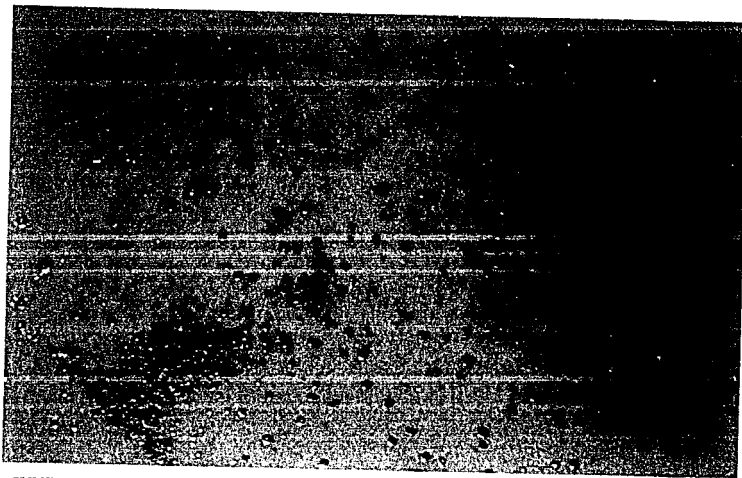


FOTO 1.- PLACA DE MSB CON LA DILUCION 10^{-4} .

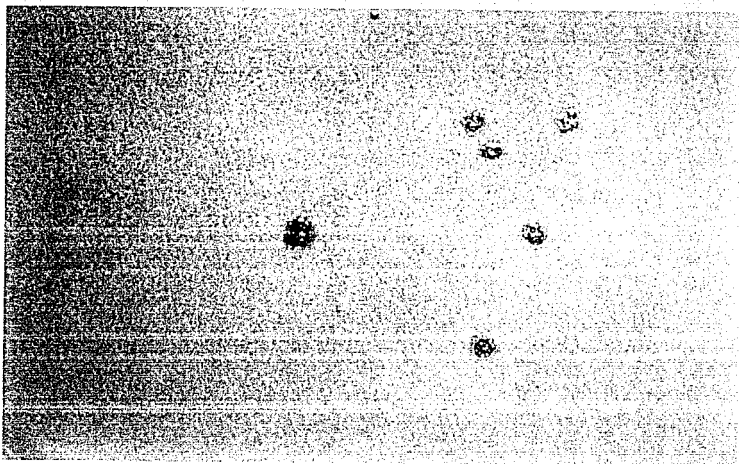


FOTO 2.- PLACA DE MSB CON LA DILUCION 10^2 .

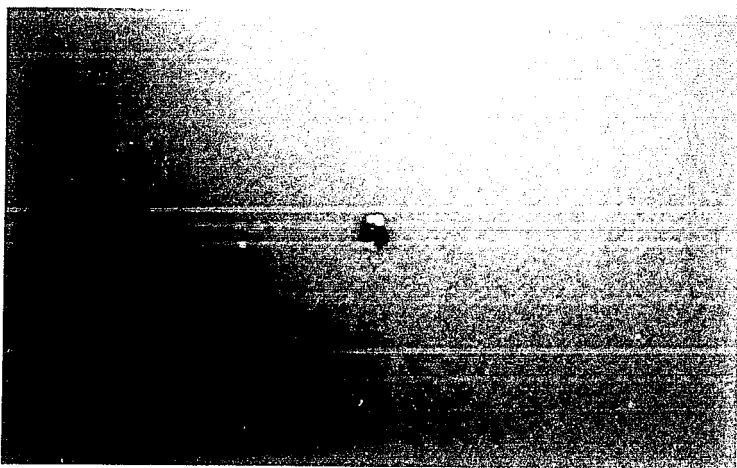


FOTO 3.- PLACA DE MSB CON LA DILUCION 10^3 .

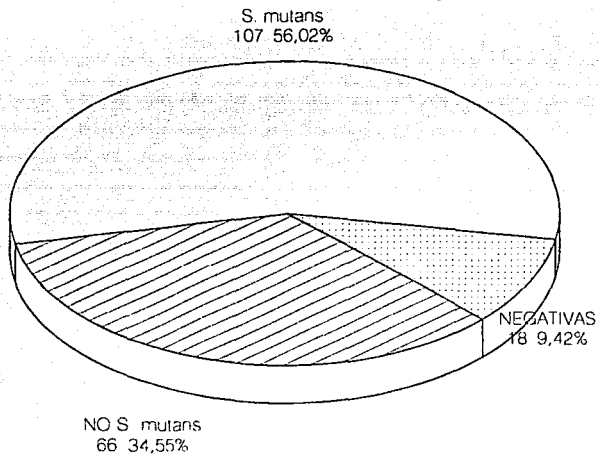
RESULTADOS

De 191 muestras tomadas en niños, de 6 a 12 años con un promedio de 9.01 años (DS = 1.736), en 173 muestras el desarrollo fue positivo. En 107 (56.02 %) muestras, presentaron desarrollo de *Streptococcus mutans*, en 66 (34.55 %) muestras no desarrollaron *S. mutans* y en 18 (9.42 %) muestras no presentaron desarrollo de bacterias de las cuales, 5 niños tomaban algún tipo de antibiótico (Fig. 1).

Del total de muestras colectadas se encontró *S. mutans* en el 70.72 % de 89 de los niños que desayunaban en su casa; 50.72 % de 76 de los que tomaban el desayuno de la escuela; 45.4 % de 15 de los toman ambos desayunos y en un 81 % de 11 de los que ayunan (Tabla 5 y Fig. 2).

Del total de las muestras positivas para *S. mutans* 56 resultaron ser del sexo masculino y 51 del sexo femenino, de los cuales 58 (54.2 %) niños desayunaban en su casa, 35 (32.7 %) niños tomaban el desayuno de la escuela, 5 (4.7 %) niños desayunaban tanto en la casa como en la escuela y 9 (8.4 %) niños permanecían en ayuno (Tabla 6).

**Fig. 1.- PORCENTAJE DE POSITIVAS
Y NEGATIVAS PARA *S. mutans*.**



TAMAÑO DE MUESTRA 191.

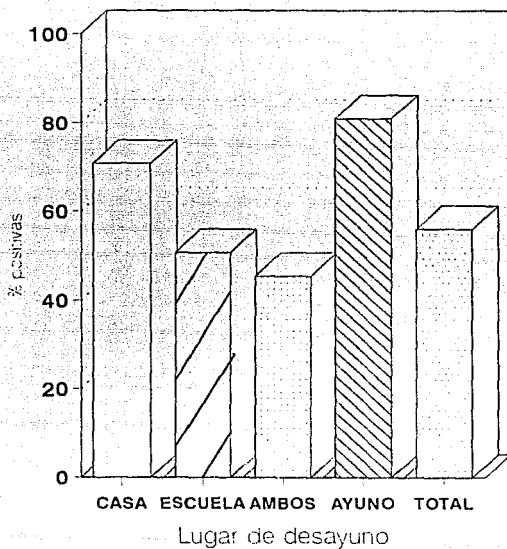
TABLA 5.- MUESTRAS POSITIVAS Y NEGATIVAS PARA *S. mutans*.

LUGAR	POSITIVAS		NEGATIVAS		TOTALES	
	<i>S. mutans</i> (%)	NO <i>S. mutans</i>				
ESCUELA	35	50.72	34	7	76	
CASA	58	70.72	24	7	89	
AMBOS	5	45.4	6	4	15	
AYUNO	9	81.	2	0	11	
TOTAL	107	56.02	66	34.55 %	18 9.42 %	191

TABLA 6.- DISTRIBUCION POR SEXO DE ACUERDO AL LUGAR DE DESAYUNO.

DESAYUNO	SEXO		TOTAL	%
	femenino	masculino		
CASA	28	30	58	54.2
ESCUELA	19	16	35	32.7
AMBOS	1	4	5	4.7
AYUNO	4	5	9	8.4
TOTAL	51	56	107	100

**Fig. 2.- MUESTRAS POSITIVAS
A *S. mutans* (%).**



Tamaño de muestra: 191

En cuanto a las unidades formadoras de colonias (UFC), se encontraron 73 muestras entre 0 y 10 UFC, 23 entre 11 y 99 UFC, 8 entre 100 y 249 UFC y 3 en las que tenían más de 250 UFC (Tabla 7 Y Fig. 3). El resultado del análisis estadístico para determinar las diferencias encontradas entre los grupos, fueron significativas a $p = < 0.05$, comparando los niños que tomaban el desayuno de la escuela con los que lo tomaban en su casa. Para el caso de los niños que ayunaban y los que tomaban ambos desayunos (casa y escuela), no fueron tomados en cuenta debido a que el tamaño de la muestra no era suficiente, para obtener un resultado significativo. El número de muestras utilizadas para el análisis estadístico fue de 90, 44 niños y 46 niñas; 34 de ellos tomaban el desayuno de la escuela y 56 el de su casa, se compararon los promedios de UFC por sexo, los niños tuvieron 19.59 UFC en promedio y las niñas 26.34 UFC en promedio. El análisis estadístico no demostró diferencias significativas ($t = 0.5549$; $p = 0.458$).

Por otra parte se comparó el promedio de las UFC por edad, para lo cual se dividió en dos grupos; en el primer grupo los niños de 6 a 8 años y en el segundo los niños de 9 a 12 años, los niños. Del primer grupo se obtuvo un promedio de 32.64 UFC y del segundo 16.33 UFC en promedio; las diferencias encontradas entre los grupos no fueron estadísticamente significativas (con una $t = 3.2265$; $p = 0.0759$).

Se compararon los promedios de UFC por edad y sexo obteniendo 18.00 UFC en promedio para los niños y 45.10 UFC para las niñas del grupo entre 6 y 8 años. En el grupo de 9 a 12 años, los niños registraron 20.59 UFC y las niñas 11.92 UFC; los resultados obtenidos no fueron estadísticamente significativos $t=3.2265$; $p=.0759$ (Tabla 8 y Fig. 4).

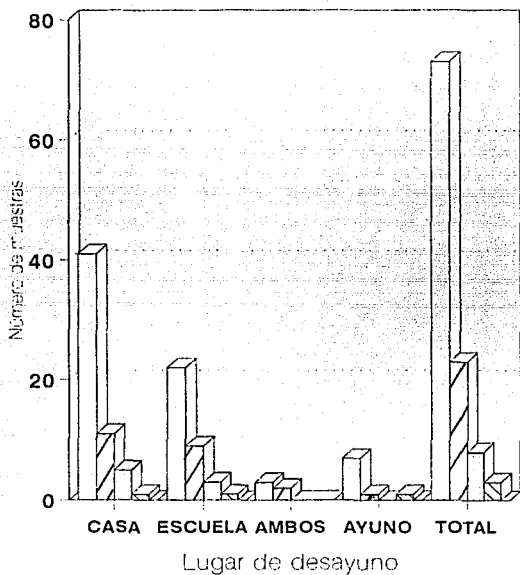
El promedio de UFC, fue comparado de acuerdo al lugar donde desayunaban; los niños que desayunaban en la escuela registraron 22.50 UFC en promedio y los que desayunaban en su casa 23.37 UFC. Las diferencias no resultaron estadísticamente significativas ($t = 0.0087$; $p = 0.9259$).

Se analizó el promedio de las UFC por grupos de edad y lugar de desayuno y de esta manera se obtuvo que los niños que tomaban el desayuno de su casa de 6 a 8 años reportaron 27.21 UFC en promedio y los de 9 a 12 años 21.40 UFC, resultó no ser estadísticamente significativo (con una $t = 0.39$ y $p = 0.703$). Al hacer la misma comparación con los niños de la escuela, en los del grupo entre 6 y 8 años registraron 38.38 de UFC en promedio, en los de 9 a 12 años 4.62 UFC; estas diferencias resultaron estadísticamente significativas ($t = 3.13$ $p = 0.006$ (Tabla 9 y Fig. 5).

TABLA 7.- CONTEO DE *Streptococcus mutans*

LUGAR	U F C				totales
	0 - 10	11 - 99	100 - 249	+250	
CASA	1	11	5	1	58
ESCUELA	2	9	3	1	35
AMBOS	3	2	0	0	5
AYUNO	7	1	0	1	9
TOTAL	73	23	8	3	107

Fig. 3.- CONTEO DE UFC DE *S. mutans*



0-10 UFC
 11-99 UFC
 100-249 UFC
 + 250 UFC

Tamaño de muestra: 107

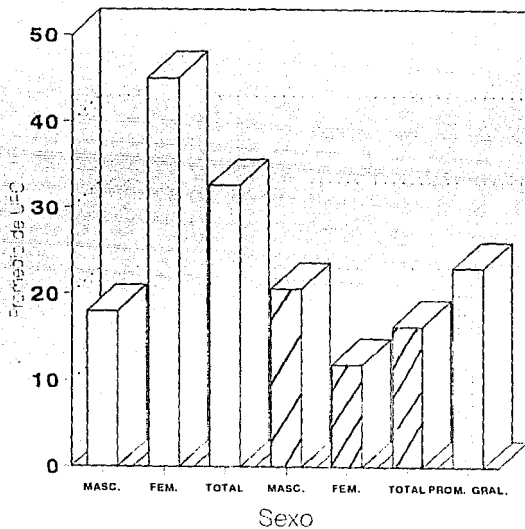
TABLA 8.- PROMEDIO DE UFC POR EDAD Y SEXO

EDAD	SEXO	PROMEDIO	DES.V. EST.	MUESTRAS
6 A 8	MASCU	18.00	37.76	17
	FEMEN	45.10	60.64	20
TOTAL		32.64	52.55	37
9 A 12	MASCU	20.59	39.11	27
	FEMEN	11.92	26.72	26
TOTAL		16.33	33.57	53
TOTALES		23.04	42.90	90

TABLA 9.- COMPARACION ESTADISTICA DE DESAYUNO, EDAD Y UFC

E S C U E L A				
EDAD	CASOS	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR	
6 - 8	18	38.38	45.40	
9 - 12	16	4.62	5.41	
Resultado estadístico $t = 3.13$ $p = .006$				
C A S A				
6 - 8	19	27.21	59.27	
9 - 12	37	21.40	39.10	
Resultado estadístico $t = .39$ $p = .703$				

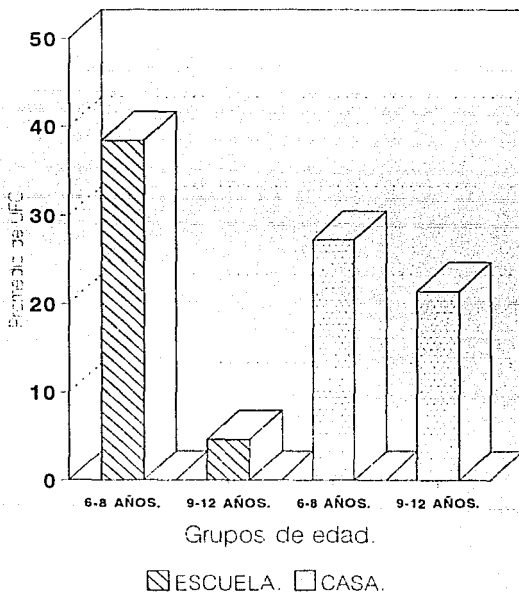
Fig. 4.- PROMEDIO DE UFC DE *S. mutans* POR EDAD Y SEXO.



□ 6-8 AÑOS ▨ 9-12 AÑOS □ PROM. GRAL.

Tamaño de muestra: 90

Fig. 5.- PROMEDIO DE UFC POR LUGAR DE DESAYUNO Y GRUPOS DE EDAD.



Tamaño de muestra: 90

A 46 niños de los 191 se les preguntó si llevaban a cabo una higiene bucal posterior al desayuno de los cuales 16 contestaron que sí y 30 que no. De los 46 niños encuestados en 29 de ellos se encontró *Streptococcus mutans*; 10 tomaban el desayuno de la escuela y 19 el de la casa, de los niños de la escuela ninguno se lavaba los dientes después de desayunar y obtuvimos un promedio de 25.70 UFC (DS = 45.20). Los niños que desayunaban en su casa 8 llevaban a cabo una higiene bucal después del desayuno teniendo un promedio de 4.50 UFC (DS = 9.36); y 11 no llevaban a cabo esta higiene, y éstos tuvieron un promedio de 61.72 UFC (DS = 52.70).

Se comparó el promedio de UFC de los niños que no llevaban una higiene bucal que desayunaban en la escuela el cual fue 25.70 UFC, menor a los que desayunaban en su casa que tuvieron 61.72 UFC lo cual no resultó ser estadísticamente significativo ($t = -1.69$; $p = 0.108$). Al igual se comparó los niños que tomaban el desayuno de su casa, los que llevaban a cabo una higiene bucal y los que no; los que se lavaban los dientes tuvieron un promedio de 4.50 UFC, y los que no 61.72 UFC (Tabla 10), lo cual resultó ser estadísticamente significativo ($t = 3.53$; $p = 0.005$).

TABLA 10.- HIGIENE BUCAL DESPUES DEL DESAYUNO

DESAYUNO HIGIENE		#	PROM. DE UFC	DESV. EST.
ESCUELA	SI	10	25.70	45.20
	NO	0	0	0
CASA	SI	8	4.50	9.36
	NO	11	61.72	52.70

Resultado estadístico de los de la casa $t = 3.53$ $p = .005$

DISCUSION

En varios estudios se ha encontrado que un factor etiológico importante en la formación de la caries dental ha sido la ingesta de carbohidratos y una mala higiene bucal lo cual favorece la adherencia del *Streptococcus mutans*^{3,5,6,13,14,19,20,21 y 22}.

En este estudio se encontró *Streptococcus mutans* en el 56.02 % de los niños, 70.72 % de los que desayunaban en su casa y 50.72 % de los que tomaban el desayuno de la escuela, menor a lo reportado en México por Del Río que fue 95% en los niños de la ciudad y 75% de niños Mazahuas¹². Posiblemente el menor porcentaje de desarrollo de *S. mutans* se debe a que los niños de esta investigación tienen una atención dental en la misma escuela y los niños estudiados por Del Río son niños Mazahuas los cuales dadas sus condiciones paupérrimas y su aislamiento de las zonas industrializadas no cuentan con una atención dental adecuada pero la dieta que tienen les ayuda a tener un porcentaje menor de *S. mutans* comparado con los niños que paseaban por el parque de Chapultepec los cuales presumiblemente consumieron alguna golosina o algún alimento al pasear y principalmente a que en el estudio de Del Río los porcentajes son de niños con caries.

Se encontró que un número mayor de muestras tuvieron un desarrollo entre 0 y 10 UFC, y menor, en las mayores de 250 UFC, con lo cual se puede observar que el resultado es menor a lo reportado por Del Río (1991), Kristoffersson (1986) y Togelius (1982); Del Río en 1991, encontró un mayor número de muestras con desarrollo de *S. mutans* entre 11

y 99 UFC, y un menor entre 0 y 10^{102} ; En otro estudio en Suiza con niños de 13 años se encontró un mayor número de muestras con más de 100 UFC y un menor número de muestras con 0 UFC³¹. En otro estudio realizado con niños de escuela de entre 7 a 15 años, reclutas militares de entre 19 y 21 años, y refugiados vietnamitas de entre 19 y 21 años, se encontró mayor desarrollo entre 11 y 50 UFC y menor entre 51 y 99 UFC³².

Comparando el lugar donde desayunaban con la edad y las UFC encontramos que los niños entre 9 y 12 años tuvieron menor promedio de UFC que los niños entre 6 y 8 años lo cual fue estadísticamente significativo y esto posiblemente se debe a que los niños de 9 a 12 años tienen más años con el control de carbohidratos, no pudiendo compararlo con otros por no haber reportado este tipo de comparaciones anteriormente.

Se obtuvo un valor significativo en la comparación de los niños que llevaban a cabo una higiene bucal después de desayunar en su casa y los niños de la escuela de los cuales ninguno se lavaba los dientes después de desayunar y esto posiblemente nos indica que aunque no se cepillan los dientes los niños de la escuela tenían un promedio menor de UFC que los que tampoco tenían una higiene de los que tomaban el desayuno de su casa.

CONCLUSIONES

El control de carbohidratos en la dieta de la escuela tuvo efecto en los niños entre 9 y 12 años, lo que presumiblemente se debe a que estos niños tienen más años con el control en el consumo de carbohidratos.

Si la cantidad de carbohidratos en el desayuno de la escuela fuera reducida aun más posiblemente tendría un efecto significativo en la cantidad de UFC del *Streptococcus mutans*.

Es conveniente que acompañado con el control de carbohidratos, los niños en la escuela tuvieran un programa preventivo que sea aplicable posterior al desayuno.

Es necesario que se fomente en los niños una higiene bucal posterior a la ingesta de alimentos ya que se ha comprobado que reduce considerablemente la cantidad de *S. mutans* dados los resultados obtenidos en este estudio.

BIBLIOGRAFIA.

1. HARRIS, J. K. 1974. Control of *S. mutans* infections in naval personnel during routine treatment. Dental Resch. 64:30-33.
2. NEWBRUM, E. 1984. Cariology, Baltimore MD, W&W Co. PP 396.
3. MANAKER, L. y MORHART, R. 1986. Bases biológicas de la caries dental. Salvat. pp 186.
4. SHAFER, L. 1988. Oral pathology. Interamericana. pp 940.
5. CURTIS III, R. 1986. Kreshover lecture genetic analysis of *Streptococcus mutans* virulence and prospects for an anticaries vaccine. J. Dent. Res. 65 (8):1034-1045.
6. CURTIS III, R. 1985. Genetic analysis of *Streptococcus mutans* virulence., Curr. Top Microbiol. Immunol. 118:253-277 Berlin.
7. NEWMAN, H. N. 1986. The relation between plaque and dental caries. J. Royal Soc. of Medicine 79 (14):1-5.
8. CARLSSON, J. 1967. A medium for isolation of *Streptococcus mutans*. Arch. Oral Biol. 12:1657-1658.
9. SHKLAIR, I., KEENE, H.J. AND CULLEN, M. 1974. The distribution of *Streptococcus mutans* on the teeth of two groups of naval recruits. Arch. Oral Biol. 19:199-202.
10. SHKLAIR, I. AND KEENE, H.J. 1974. A biochemical scheme for the separation of five varieties of *Streptococcus mutans*. Arch.Oral Biol. 19:1079-1081.
11. OLDERSHAW, M.D., EISENBERG, A.D. AND CURZON, M. 1982. A biochemical micromethod to characterize *Streptococcus mutans*. Caries Res.16:96-102.
12. DEL RIO, I. 1991. Dental caries and mutans Streptococci in selected groups of urban and native indian school children in Mexico. Dent. Oral Epidemiol., 19:98-100.
13. HORTON, A.W. AND JACOB, A.E. 1988. The cariogenicity of sucrose, glucose and maize starch in Gnotobiotic rats monoinfected with strains of the bacteria *Streptococcus mutans*, *S. salivarius* and *S. milleri*. Arch. Oral Biol. 14:777-780.

14. ARNEBERG, P., ÖGAARD, B. AND SCHEIE. 1984. Selection of *Streptococcus mutans* and Lactobacilli in an intraoral human caries model. J. Dent. Res. **63**(10):1197-1200.
15. MEIERS, J.C., WIRTHLIN, M.R., AND SHKLAIR, I.L. 1982. A microbiological analysis of human early carious and non carious fissures. Journal Dent. Res. **61**(3):460-464.
16. FUKUSHIMA, MOTODA, IKEDA. 1981. Effects of exogenous insoluble glucan primer on insoluble glucan synthesis by *Streptococcus mutans*. J. Dent. Res. **60**(9):1707-1712.
17. HAMADA, S., KOGA, T. AND OOSHIMA, T. 1984. Virulence factors of *Streptococcus mutans* and dental caries prevention. J. Dent. Res. **63**(3):407-411.
18. VAN HOUTE, J., JORDAN, H.V. AND EVERSOLE. 1985. Infectivity and natural transmission of the bacterium *Streptococcus mutans* in monkeys (*Macaca fascicularis*) at different ages. Arch. Oral Biol. **30**(4):345-351.
19. SVANBERG, M., OLSSON, J. 1985. Oral implantation of *Streptococcus mutans* in man with and without prior chlorhexidine mouthrinses. Scand. J. Dent. Res. **94**:306-10.
20. MAUPOME, C. G. 1991. El consumo de azúcares cariogénicos y la caries dental. Prac. Odont. **12**(12):43-52.
21. KLOCK, B. AND KRASSE, B. 1987. Caries status and microbial conditions in children in 1973 and 1984. J. Dent. Res. **95**:13-7.
22. FARGHALY, M.M., EKLUND, S. AND LOESCHIE, W.J. 1984. *Streptococcus mutans* levels and biotypes in Egyptian and Saudi Arabian students during the first month of residency in the United States. J. Dent. Res. **63**(1):52-55.
23. DUGUID, R. 1985. In vitro acid production by the oral bacterium *Streptococcus mutans* 10449 in various concentrations of glucose, fructose and sucrose. Arch. Oral Biol. **30**(4):319-324.
24. SCHACHTELE, C.F. 1983. Dental caries. Oral microbiol. Oral diseases: 479-515.
25. THYLTRUP, A., FEJERSKOV, O. 1991. Caries. Edit Doyma pp 338.
26. MÄKINEN, K. K., SÖDERLING AND ISOKANGAS, P. 1989. Oral biochemical status and depression of *Streptococcus mutans* in children during 24 to 36 month use of xilitol chewing gum. Caries Res. **23**:261-267.

27. BÄR A. 1988. Caries prevention with Xilitol. World Rev. Nutr.Diet. **55**:183-209.
28. FISHER, H.K. AND WILSON, E.D. Fisiología de la alimentación: 30-39., Edit. Interamericana.
29. SALAM, A. S. AND LOESCHE, W. J. 1972. Survival of human dental plaque flora in various transport media. Applied Microbiology. :638-644.
30. GOLD, O. C., JORDAN, H. V. & HOUTE, J. V. 1973. A selective medium for *Streptococcus mutans*. Arch. Oral Biol. **18**:1356-1364.
31. KRISTOFFERSSON, K., AXELSSON, P. AND BRATTHALL, D. 1986. Caries prevalence, salivary *Streptococcus mutans* and dietary scores in 13 year old Swedish schoolchildren. Oral Epidemiol. **14**:202-205.
32. TOGELIUS, J. AND BRATTHALL. 1982. Frequency of the bacterium *Streptococcus mutans* of selected human populations. Arch. Oral Biol. **27**:113-116.