

2  
2ej.



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

CUANTIFICACIÓN DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* EN  
SÍNDROME DE BIBERÓN UTILIZANDO  
DENTOCULT®

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A :

GRACIELA AGUIRRE VALLEJO

DIRECTOR: Q.F.B. FERNANDO FRANCO MARTÍNEZ



273755

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

México D.F., 1999



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

## AGRADECIMIENTOS

Con la ilusión del ayer, la firmeza del hoy y la esperanza del mañana, doy gracias a Dios por permitirme haber llegado hasta este momento, en el cuál tengo la oportunidad de dedicar el presente trabajo a:

A la memoria de mi madre Carolina Vallejo de Aguirre, quien sembró en mi la semilla del amor y superación.

A mi padre Elías Aguirre Cisneros y a mi esposo Rubén Francisco Cruz López, quienes me brindan día con día todo su apoyo, comprensión, cariño y confianza, además de motivarme a ser mejor en cada momento de la vida.

A mi suegra Juana López Camacho, por sus consejos y amistad.

A mis hijos: Hikari Shiketsu y Héctor Shelltowy, quienes son mi mayor tesoro; esperando que al paso de los años comprendan que para lograr lo que se quiere, hay que luchar y sacrificar algunas cosas en la vida.

A todos mis familiares y amigos que han estado a mi lado cuando más lo he necesitado.

Al Q.F.B. Fernando Franco Martínez, por sus enseñanzas, atenciones y tiempo dedicado a la realización del presente trabajo, pero sobre todo por su paciencia.

A las instituciones que apoyaron a la realización del presente trabajo, en especial al Dr. Aldo J. Flores de Ivoclar de México® y a la Dra. Martha Celaya Rodríguez del Hospital General de México.

A la Dra. Arcelia Melendez Ocampo por su apoyo y conocimientos.

Por último quiero decirles a todos que esto todavía no termina, ya que apenas empieza.

## INDICE

1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
3. Planteamiento del problema y justificación	6
4. Hipótesis	7
4.1 Hipótesis de investigación	
4.2 Hipótesis nula	
5. Objetivos	7
5.1 Objetivo General	
5.2 Objetivos específicos	
6. Marco Teórico	8
6.1 Caries por biberón	
6.1.1 Concepto	
6.1.2 Etiología	
6.1.3 Sinominia	
6.1.4 Factores de riesgo	
6.1.5 Patogenia	
6.1.6 Características clínicas	
6.2. Microorganismos asociados al desarrollo de la caries	14
6.2.1 <i>Streptococcus mutans</i>	
6.2.1.2 Clasificación	
6.2.1.3 Factores de cariogenicidad de Streptococcus del grupo mutans	
6.2.2 <i>Lactobacillus spp.</i>	
6.2.2.1 Factores de cariogenicidad de Lactobacillus spp	

7. Saliva	19
7.1 Composición de la saliva	
7.2 Función de la saliva	
7.3 Neutralización y amortiguación de ácidos (capacidad buffer)	
8. Pruebas de actividad de caries importancia para el diagnóstico del riesgo de caries.	23
8.1 Pruebas microbiológicas	
8.1.1 Recuento de Lactobacillus en saliva	
8.1.2 Recuento de Streptococcus del grupo mutans en saliva	
8.1.3 Pruebas de Snyder y pruebas de Alban	
9. Otras pruebas	27
10. Metodología	28
10.1 Material	
10.2 Método	
10.3 Tipo de estudio	
10.4 Población de estudio y muestra	
10.5 Criterios de Inclusión y exclusión	
10.6 Procedimiento	
11. Resultados	33
12. Tablas	35
13. Discusión	47
14. Conclusiones	48
15. Anexos	50
16. Bibliografía	53

# CUANTIFICACIÓN DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* EN SÍNDROME DE BIBERÓN UTILIZANDO DENTOCULT®

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad se ha visto que la prevalencia del Síndrome de Biberón se ha incrementado notablemente, este hecho se atribuye a la presencia de azúcares refinados que se encuentran presentes en la dieta diaria del infante, así como al uso prolongado del biberón y la mala higiene, formándose un hábitat adecuado para el *Streptococcus mutans* que es el principal causante de la caries, éste *Streptococcus mutans* fue descubierto en 1924 por Clark.

Durante los años 50 y 60 los trabajos de Orland, Keyes y colaboradores demostraron su capacidad para producir caries.

Evaluando la gravedad de la enfermedad de caries es importante conocer que existen métodos que dan a conocer la actividad de caries, mediante la determinación del número de estas bacterias: *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.*, en boca.

Hoy en día, el avance de las técnicas preventivas y diagnósticas hacen posible el diagnóstico y tratamiento de la caries como enfermedad, se puede captar a los individuos que están más expuestos a desarrollar lesiones, es decir, a pacientes de alto riesgo, y a través de medidas preventivas y terapéuticas, cambiar su potencial de contraer la enfermedad.

A nivel individual, el diagnóstico de riesgo de caries permite establecer un pronóstico y una planificación de los tratamientos preventivos y terapéuticos, así como la frecuencia en los controles.

El diagnóstico se basa, en una historia clínica, que comprende la anamnesis, la exploración física y pruebas complementarias.

Las pruebas complementarias para el diagnóstico del riesgo de caries son las "Pruebas de actividad caries", que miden en qué grado están presentes determinados factores que favorecen la aparición de nuevas lesiones, básicamente son pruebas salivales.

Las pruebas de actividad de caries más importantes son las microbiológicas, concretamente los recuentos en saliva de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.* Para que se pueda utilizar en la clínica, es importante que el método sea muy sencillo y fácil de realizar.

El método clásico, que consistía en emplear placas con agar Rogosa-Mitchell-Wisemann como medio selectivo, inoculando saliva diluida en forma seriada, ha dado paso al sistema Dentocult®

Este sistema Dentocult® permite al odontólogo conocer los niveles en saliva de *S. mutans* en sus pacientes, ofreciendo la posibilidad de conocer su riesgo microbiológico, así como, la evolución del mismo en función de sus medidas preventivas, terapéuticas y motivacionales.

## **2. ANTECEDENTES HISTÓRICOS**

La historia del conocimiento cariológico se inicia apoyado en dos hechos fundamentales: el aporte científico del microscopio de Van Leeuwenhoek en el siglo XVII, el cual, permite el nacimiento y posterior desarrollo de la bacteriología y la postulación de la teoría químico-bacteriana, la cual, descubre el origen infeccioso de la caries dental.



Esta teoría, está fundamentada en las investigaciones realizadas por Miller, entre los años 1880-1890, en el laboratorio bacteriológico de la Universidad de Berlín, dirigido por Robert Koch. Miller, colocando dientes humanos extraídos en medios compuestos con mezclas de pan, azúcar y saliva humana, logra observar el proceso de desmineralización que sufren los mismos, y establece que es la acción acidogénica de las bacterias existentes en la boca, las que actuando sobre los azúcares de los alimentos producen los ácidos que atacan el esmalte dentario.

El posterior desarrollo de las investigaciones sobre la base de la teoría acidogénica, permitió conocer cómo los ácidos así formados, eran los responsables de la disolución de los cristales de apatita que constituyen el 95% de la estructura esmaltaria de los dientes. Los ácidos se mantenían en estrecho contacto con la superficie esmaltaria a través de una estructura gelatinosa (placa dental) que los protegía del lavado y efecto amortiguador (buffer) de la saliva.

La riqueza bacteriológica de la boca y la carencia de técnicas apropiadas para la toma de muestras y determinación específica de las bacterias presentes en el medio bucal no permitió determinar con precisión a las bacterias responsables de la caries, lográndose solamente establecer que el microorganismo predominante tanto en el medio salival como en el de la propia lesión, era el *Lactobacillus acidófilus*.

Es Kliger quien, en 1916, señala que el agente etiológico de la caries dental debía ser un microorganismo acidogénico (productor de ácido) y al mismo tiempo acidúrico (resistente al ácido); además descubre en cultivos de placa dental, la presencia de cocos gram positivos a diferencia de los cultivos procedentes de caries dentinarias en los que predominaban

microorganismos gram positivos de forma de bastón (*Lactobacillus*), los cuales, aisló utilizando medios ácidos. Kliger introduce un nuevo método en la bacteriología bucal cuando logra obtener muestras clasificando las bocas como "limpias" o "sucias", y las caries como "primarias" y "dentinarias", de acuerdo a la apariencia clínica y el conteo bacteriano.

En 1920, las evidencias clínicas y de laboratorio acumuladas indicaban al *Lactobacillus acidófilus* como el microorganismo responsable de la caries dental, debido a que cuando éste era incubado en un medio glucosado, el pH descendía por debajo de 5 y en siete días ya se podían observar signos de descalcificación superficial del esmalte dentario. Otras investigaciones relacionaban el número de *Lactobacillus spp* en la saliva con la presencia de caries dental. Sin embargo, para la fecha no era posible todavía determinar si esta asociación era la causa o el resultado de la caries presente.

En 1924, el científico inglés J. Kilian Clarke, logra identificar entre los microorganismos presentes en lesiones cariosas incipientes, una bacteria de forma esférica que describió como "opaca, marronzuca, de forma redondeada, con un centro luminoso y apariencia pilosa". Esta bacteria no había sido descrita antes en la literatura científica, y la llamó, por su extraño y novedoso aspecto, *Streptococcus "mutans"* (mutante).

A pesar de este importante hallazgo, los trabajos de Clarke no gozaron de interés científico durante toda la década de los veinte, aun habiéndose comprobado sus observaciones en 1927 por I.H. McLean y G.F. Abercrombie, bacteriólogos de la Universidad de Cambridge y por W.M. Scott, médico del Ministerio de la Salud de Inglaterra, quienes relacionaron el *Streptococcus mutans* con casos fatales de endocarditis o inflamaciones pericárdicas. Estos investigadores examinaron la cepa de

Clarke y comprobaron bioquímica, serológica y morfológicamente que se trataba de la misma bacteria hallada en los casos de endocarditis. Después de la publicación de éstas investigaciones no volvió a tratarse el tema en la literatura científica por más de dos décadas.

En 1932, Enright y colaboradores, publican un estudio que revela la aparición del *Lactobacillus spp* en la saliva precediendo la aparición de la lesión cariosa. La aparición posterior de medios selectivos mejorados para *Lactobacillus spp*, permitieron determinar la presencia de actividad cariogénica en la boca.

En 1945, Robert Stephan publica el resultado de sus investigaciones sobre la importancia del descenso de pH salival en el inicio de la lesión cariosa, que se debe a los ácidos producidos por la acción metabólica de las bacterias bucales a partir de los azúcares. Estos estudios, que se conocen como las Curvas del pH de Stephan, aportan fundamentales conocimientos sobre el aspecto cariogénico de los azúcares de la dieta, dando a la vez origen a otros estudios de invaluable importancia para el actual conocimiento etiopatogénico de la caries

Una serie de hallazgos y descubrimientos científicos no menos importante se van sucediendo cubriendo todos los aspectos relacionados con la caries dental, entre los que se destacan:

Los estudios posterior elaboración de los sustitutos de azúcares como la sacarina, el aspartame, asulfame etc., y la aparición de los alcoholes de azúcar como el manitol, sorbitol y el xylitol.

El desarrollo de los conocimientos bioquímicos y bacteriológicos acerca de la saliva y su relación con la constitución de los procesos

bioquímicos y bacteriológicos de la placa dental y su participación en la etiopatogenia de la caries.

El desarrollo de las pruebas salivales de laboratorio, bacteriológicas y funcionales que facilitan el diagnóstico de la infección cariosa.

Igualmente, los avances logrados en el conocimiento de la actividad del *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp*, *Actinomyces spp* y otras bacterias acidogénicas en la formación y desarrollo de la lesión cariosa.

Estos logros científicos soportan los conocimientos de los cuales dispone la ciencia odontológica para fundamentar su aspecto más útil, el aspecto preventivo.<sup>2, 19, 20, 21</sup>

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

La frecuente presencia de caries por biberón es un problema que se presenta en niños que su edad oscila entre los tres años de edad lo que ha generado el interés de muchos investigadores, los cuales han realizado múltiples estudios para encontrar la relación existente entre el uso prolongado del biberón y los diversos factores causantes de caries, tratando de encontrar métodos prácticos y eficaces para identificar a los pacientes susceptibles a la caries, ésto ha motivado el presente estudio para poner en práctica el uso del sistema Dentocult® para determinar los niveles de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp* y la capacidad buffer, para evaluar la eficacia en el diagnóstico, con lo que se podría establecer un tratamiento y medidas preventivas adecuadas, así como llevar un control de la caries por biberón.

bioquímicos y bacteriológicos de la placa dental y su participación en la etiopatogenia de la caries.

El desarrollo de las pruebas salivales de laboratorio, bacteriológicas y funcionales que facilitan el diagnóstico de la infección cariosa.

Igualmente, los avances logrados en el conocimiento de la actividad del *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp*, *Actinomyces spp* y otras bacterias acidogénicas en la formación y desarrollo de la lesión cariosa.

Estos logros científicos soportan los conocimientos de los cuales dispone la ciencia odontológica para fundamentar su aspecto más útil, el aspecto preventivo.<sup>2,19 20, 21</sup>

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

La frecuente presencia de caries por biberón es un problema que se presenta en niños que su edad oscila entre los tres años de edad lo que ha generado el interés de muchos investigadores, los cuales han realizado múltiples estudios para encontrar la relación existente entre el uso prolongado del biberón y los diversos factores causantes de caries, tratando de encontrar métodos prácticos y eficaces para identificar a los pacientes susceptibles a la caries, ésto ha motivado el presente estudio para poner en práctica el uso del sistema Dentocult® para determinar los niveles de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp* y la capacidad buffer, para evaluar la eficacia en el diagnóstico, con lo que se podría establecer un tratamiento y medidas preventivas adecuadas, así como llevar un control de la caries por biberón.

## 4. HIPÓTESIS

### 4.1 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

El Dentocult® puede ser utilizado para cuantificar las colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.*, así como la capacidad buffer en el Síndrome de biberón.

### 4.2 HIPÓTESIS NULA

El Dentocult® no es eficaz para cuantificar las colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.*, así como la capacidad buffer en el Síndrome de biberón.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 OBJETIVO GENERAL

Uso del Dentocult® para determinar el número de colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.*, así como, la capacidad buffer en pacientes con Síndrome de biberón que acuden a la Facultad de Odontología, en un período de Abril a Mayo.

### 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el número de colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.* utilizando Dentocult®.
- Utilizar el Dentocult® en el Síndrome de biberón para determinar susceptibilidad cariosa.
- Conocer la capacidad buffer en saliva de pacientes con Síndrome de Biberón.
- Comprender la importancia de los niveles de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.*, con la capacidad buffer de la saliva en el Síndrome de Biberón

## 4. HIPÓTESIS

### 4.1 HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

El Dentocult® puede ser utilizado para cuantificar las colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.*, así como la capacidad buffer en el Síndrome de biberón.

### 4.2 HIPÓTESIS NULA

El Dentocult® no es eficaz para cuantificar las colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.*, así como la capacidad buffer en el Síndrome de biberón.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 OBJETIVO GENERAL

Uso del Dentocult® para determinar el número de colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.*, así como, la capacidad buffer en pacientes con Síndrome de biberón que acuden a la Facultad de Odontología, en un periodo de Abril a Mayo.

### 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

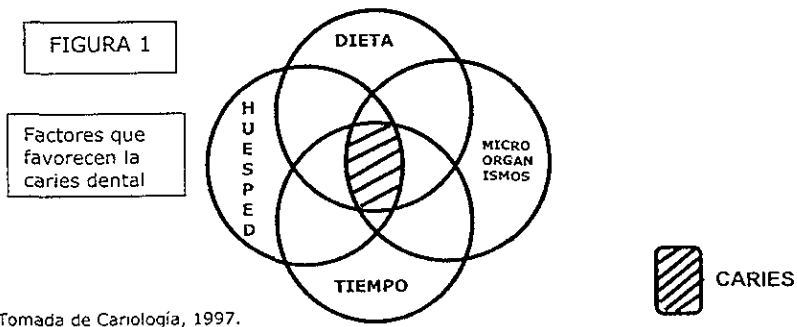
- Determinar el número de colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.* utilizando Dentocult®.
- Utilizar el Dentocult® en el Síndrome de biberón para determinar susceptibilidad cariosa.
- Conocer la capacidad buffer en saliva de pacientes con Síndrome de Biberón.
- Comprender la importancia de los niveles de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.*, con la capacidad buffer de la saliva en el Síndrome de Biberón.

## 6. MARCO TEÓRICO

### 6.1. CARIES POR BIBERÓN

#### 6.1.1 CONCEPTO

La caries del biberón es un proceso rápido, destructivo y progresivo de la estructura dental (Fig. 1) depende de bacterias, sustratos, un diente susceptible, así como del tiempo.<sup>22</sup>



#### 6.1.2 ETIOLOGÍA

La caries por biberón es un proceso rápidamente destructivo, ocasionado por el hábito de dejar al niño dormir con el biberón en la boca, aunado a la infección por *Streptococcus mutans*. En primer lugar afecta a los incisivos superiores.<sup>4</sup>

Este patrón de enfermedad es importante, ya que se requiere tratamiento extenso antes de que el niño crezca lo suficiente para cooperar



durante su cuidado dental restaurativo, para lo que se necesita restricción física, sedación o anestesia general.

Investigaciones recientes sugieren que la etiología de la caries por biberón es más compleja de lo que se pensaba. Una parte importante es la edad en que los niños son infectados por el *Streptococcus mutans*, debido a que su nicho ecológico se encuentra en la superficie del diente, no aparece en la boca del lactante hasta etapas tardías de la erupción de la dentición primaria (Berkowitz y col, 1980). Se ha demostrado que la transmisión de boca a boca de *S. mutans* se da entre madre e hijo (Berkowitz y col, 1981), y que la implantación efectiva en los lactantes se relaciona en parte con el tamaño del inóculo.

Los lactantes adquieren un genotipo de *S. mutans* que es idéntico al de la madre, aunque ésta almacena una población más heterogénea de *Streptococcus mutans*, a diferencia de sus hijos, en el momento de la adquisición (Caufield y Walker, 1989). Esta “transmisión vertical” implica principalmente a la madre, ya que las cepas obtenidas del padre son diferentes de las del lactante.<sup>13,14,15</sup>

En consecuencia, es frecuente que la infección por *Streptococcus mutans* y el uso prolongado del biberón den como resultado el Síndrome por Biberón. El período exacto de colonización de esta bacteria es a los 26 meses de edad, a esta etapa se le conoce como “Ventana de infectividad”.<sup>16</sup>

### **6.1.3 SINONIMIA**

Un número importante de niños sufre enfermedad dental antes de los 36 meses de edad y la caries por biberón es una forma muy

devastadora que se registra a menudo en niños alimentados durante largo tiempo con biberón, por ello se ha denominado de diferentes formas

- a) Caries del biberón.
- b) Síndrome de la alimentación por biberón.
- c) Boca de biberón.
- d) Caries de la infancia temprana (CIT).
- e) Caries de la lactancia. <sup>29</sup>
- f) Caries de la infancia por alimentación.

#### **6.1.4 FACTORES DE RIESGO**

Los factores de riesgo, si bien no todos incluyen:

1.-La dieta inicial del recién nacido con leche materna, leche artificial, o ambas, contienen suficiente azúcar en la forma de lactosa para poseer un potencial cariígeno importante. <sup>1</sup>

2.- Los factores primarios relacionados con la producción de ácidos en la caries dental son la frecuencia de la ingestión y la cantidad de tiempo que la sustancia cariógena permanece en la boca.

3.- Las prácticas de alimentación tales como colocar al niño en su cama durante las horas de sueño o siesta con un biberón que contenga cualquier líquido endulzado aparte de agua o utilizar éste con leche o jugo como tranquilizante cuando el niño esta alerta.

4.- Hay documentación que señala la posibilidad de registrar la misma caries destructiva con la alimentación natural frecuente por demanda durante periodos largos, incluyendo la acción de dormir con el lactante que

se alimenta durante la noche (Kotlow comunico tres caso de caries asociadas con alimentación por el pecho materno).

5.- A medida que el lactante crece y se alimenta con refrigerios en la forma de alimentos cariogénos.

6.- Los antibióticos y otros medicamentos infantiles saborizados con sacarosa son fuentes ordinarias y frecuentes de potencial cariogéno.

7.- Chupetes impregnados de azúcar y otros hábitos parecidos.

8.- La velocidad con que se elimina el azúcar de la boca también es factor potencial cariogénico de un alimento, ya que la exposición de las bacterias de la placa a los hidratos de carbono genera un descenso en el pH (4.5-5.0) hasta un valor donde comienza la disolución de la estructura dentaria.

9.- Las concentraciones importantes de microorganismos cariogénos: *S. mutans* y *Lactobacillus spp.*

10.- Calidad de la práctica de higiene bucal.

11.- Patrones familiares.<sup>22, 29,30</sup>

### **6.1.5 PATOGENIA**

La caries por biberón se presenta cuando el niño duerme con un biberón que contiene cualquier líquido endulzado que no sea agua, el cual, se acumula alrededor de los dientes anteriores superiores, brindando un excelente medio de cultivo para los microorganismos acidógenos, además

el flujo salival disminuye durante el sueño y se hace lento el despeje del líquido de la cavidad oral, disminuyendo los mecanismos protectores naturales.

De esta forma las bacterias de la placa están recibiendo una continua provisión de sustratos, lo que les permite producir grandes cantidades de ácidos. Debido a las bajas continuas del pH no es sorprendente que las bacterias más frecuentes en esta entidad sean los *Streptococcus* del grupo *mutans* y los *Lactobacillus spp*, así como, la capacidad buffer se ve afectada.<sup>15</sup>

#### **6.1.6 CARACTERÍSTICAS CLINICAS**

La caries por biberón en sus primeras etapas puede no ser evidente clínicamente. Cuando se manifiesta es observada como pequeñas manchas blancas conocidas como caries incipientes. Por lo general las lesiones van de severas en los incisivos superiores a moderadas en los caninos inferiores y su gravedad tiende a aumentar con la edad.

Los primeros molares suelen presentar lesiones oclusales profundas con destrucción en las caras vestibulares y menos aún en las palatinas. Los caninos primarios, cuando se ven afectados presentan involucradas las caras labiales y linguales o palatinas. Los incisivos inferiores, por lo general se encuentran bañados en saliva protectora, que facilita la remineralización y desempeña, además, otras funciones importantes, como es su capacidad buffer.

El resultado de este tipo de caries puede ser infección, dolor, pérdida prematura de los dientes y un peligro aumentado de más caries dental

durante varios años después que se interrumpa el uso del biberón. Incluso pueden sufrir caries rampante que es un trastorno de pronto inicio y rápido avance en adolescentes, muchas veces como secuela de la caries por biberón iniciada durante los tres primeros años de vida, o puede presentar caries extensa como consecuencia de patrones de alimentación instaurados después del destete.<sup>7</sup>

Los diferentes grados de caries dependen de la edad en que está se manifiesta, entre los 36 primeros meses de edad con el uso prolongado del biberón se encuentran en peligro de contraer caries en fosetas y fisuras los molares; así como, en los dientes incisivos centrales la caries empieza en las superficies proximales y en los laterales las superficies mesial y vestibular.<sup>10,30</sup>

## 6.2. MICROORGANISMOS ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LA CARIES

La caries dental resulta de la interacción de la microflora de la placa, la dieta, el huésped con una superficie sensible, así como, del tiempo de permanencia. La susceptibilidad de la superficie es modificada por un número de factores, incluyendo la tasa de flujo salival y la capacidad amortiguadora o buffer de la saliva, además de otros factores tales como los sistemas de defensa del huésped, el uso de agentes fluorados y agentes antimicrobianos.

Se ha centrado mucha atención en la identificación de los determinantes de la patogenicidad en los microorganismos cariogénicos tales como los *S. mutans* y *Lactobacillus spp.* La producción de polisacáridos extracelulares fue en un principio considerada como una característica clave en este grupo de bacterias. Sin embargo, esta propiedad es responsable parcial de su virulencia, ya que especies como el *S. sobrinus* que produce polisacáridos en muy baja proporción, se ha reportado como cariogénica; más aún, los *Lactobacillus spp* no sintetizan este tipo de polímeros y están implicados en la progresión de las lesiones.

Dos características son las más importantes como propiedades de las bacterias cariogénicas y ellas son:

- 1.- La capacidad de transportar rápidamente los azúcares cuando compiten con otras bacterias de la placa.
- 2.- La conversión rápida de esos azúcares en ácidos, aún bajo condiciones ambientales extremas como niveles bajos de pH. Pocas bacterias bucales son capaces de soportar las condiciones ácidas del ambiente por períodos

prolongados de tiempo, pero los *S. mutans* y *Lactobacillus spp.*, no sólo son capaces de permanecer viables a bajos pH, sino que además continúan sus procesos metabólicos y de multiplicación.

Éstas propiedades les permite el desarrollo de la lesión cariosa en combinación con la frecuencia e incremento de los hidratos de carbono fermentables en la dieta, la placa permanece mayor tiempo a niveles bajos de pH por la alta producción de ácidos por parte de los microorganismos.

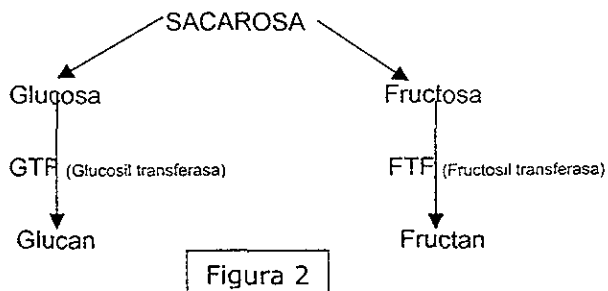
Bajo éstas condiciones, se favorece la proliferación de microorganismos acidúricos, es decir, que soporten estas condiciones ácidas del medio ambiente; tales como los *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.*, que además de acidógenos (capaces de producir ácidos), son acidúricos (que tienen afinidad por los medios ácidos).<sup>11,12,23</sup>

### **6.2.1 STREPTOCOCCUS MUTANS**

El *Streptococcus mutans* es considerado el principal agente etiológico de caries dental. En 1924, Clarke aisló ciertos organismos a partir de lesiones cariosas que él denominó "*Streptococcus mutans*" debido a que con la coloración de Gram, se observaban de forma más ovalada que redondeada, que es la forma típica de los *Streptococcus*, por lo que él consideró que estas bacterias eran mutantes de éste género.

Las células de los *S. mutans* se caracterizan por ser cocos Gram positivos, presentar un diámetro de 0.5 a 0.75 milimicras y disponerse en forma de cadenas, característica propia de éste género. En presencia de sacarosa, el *S. mutans* produce polisacáridos extracelulares polímeros de la glucosa (Fig. 2), que le permite establecerse sobre superficies dentarias

y formar una placa adhesiva y sumamente cariogena. El *S. mutans* es acidógeno y acidúrico; éste es otro aspecto importante de su alto potencial cariogeno.



Representación esquemática de la formación de polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa. Tomada de Canología, 1997

Esta bacteria es anaerobia facultativa (puede usar para su metabolismo oxígeno, si se encuentra presente en el medio ambiente, pero puede sobrevivir cuando existe ausencia total de éste), pero su crecimiento óptimo ocurre bajo condiciones de anaerobiosis. Algunas especies son capnofílicas, es decir, que requieren  $\text{CO}_2$  (bióxido de carbono), para poder crecer.

El *S. mutans* se encuentra tanto en individuos resistentes como en los susceptibles, no es patógeno por sí mismo; se convierte en patógeno cuando se agrega sacarosa a la dieta.<sup>3</sup>

El *S. mutans* y las otras especies del grupo mutans se diferencian de los otros *Streptococcus* bucales por la fermentación de manitol y sorbitol.<sup>21</sup>



### 6.2.1.2 CLASIFICACIÓN

*S. mutans* es reconocido por los esquemas de identificación principales: Americano (Facklam) y Británico (Colman).<sup>20</sup>

Cuando el *S. mutans* es aislado de diferentes fuentes existe una gran heterogeneidad genética, ello permite identificar cuatro especies diferentes: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. rattus* y *S. cricetus*. Dos especies adicionales han sido identificadas sólo en animales: *S. ferus* y *S. macacae*.

Los *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. rattus* y *S. cricetus* son cariogénicos en modelos animales. La similitud en su patogenicidad permitió denominarlo como "El grupo de Streptococcus mutans". (Cuadro 1)

**Cuadro 1**

Streptococcus del grupo mutans
<u>Especies encontradas en humanos (denominado grupo mutans):</u>
<i>S. mutans*</i>
<i>S. sobrinus</i>
<i>S. rattus</i>
<i>S. cricetus</i>
<u>Especies encontradas en animales:</u>
<i>S. ferus</i>
<i>S. macacae</i>
*Microorganismo con mayor vinculación a la caries dental en humanos.

Tomado de canología, 1997

### 6.2.1.3 FACTORES DE CARIOGENICIDAD DE *STREPTOCOCCUS* DEL GRUPO *MUTANS*

- Producción de polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa.
- Elementos que determinan fenómenos de adhesión, agregación y coagregación.
- Producción y metabolización de polisacáridos intracelulares.
- Producción de dextranasas y fructanasas.
- Rápido metabolismo de los azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos.
- Poder acidógeno, acidófilo y acidúrico.
- Efecto pos-pH corto, es decir, el tiempo necesario para recuperar su actividad de crecimiento habitual cuando, tras estar sometidas a un pH bajo, ésta vuelve a la normalidad.
- Pueden conseguir el pH crítico 4.5 para la desmineralización del esmalte más rápido que cualquier otro microorganismo de la placa.

Cabe destacar que no todas las especies del grupo mutans poseen estas características y que unas son más patógenas que otras.<sup>24, 27 28.</sup>

### 6.2.2 *LACTOBACILLUS spp.*

Los *lactobacillus spp* son productores de ácido láctico, capaces de producir ácido con un pH bajo, se encuentran entre las bacterias más acidófilas. Debido a que éstas bacterias presentan poca afinidad por la superficie del diente, difícilmente se les implica en el inicio de la caries en superficies lisas; no obstante son los primeros microorganismos en el frente de avance del proceso carioso en la dentina.

### 6.2.2.1 FACTORES DE CARIOGENICIDAD DE *LACTOBACILLUS spp.*

- Poder acidógeno, acidófilo y acidúrico.
- Algunas especies sintetizan polisacáridos extra e intracelulares a partir de la sacarosa.
- Cierta, aunque escasa, actividad proteolítica.<sup>4, 8, 9, 18.</sup>

## 7. SALIVA

La saliva es una secreción compleja, líquido vital para la integridad de los tejidos duros y blandos de la cavidad bucal, la mezcla de fluidos bucales proviene principalmente de las glándulas salivales mayores: las parótidas que tienen una secreción acuosa rica en proteínas y las glándulas submandibulares con una secreción de bajo contenido proteínico y mayor viscosidad (93% de la secreción) y las glándulas menores que se encuentran distribuidas en toda la cavidad bucal producen el 7% de la secreción, que es una saliva viscosa y rica en factores de defensa como la inmunoglobulina A (IgA).

Adicionalmente, la saliva contiene un número de constituyentes como líquido crevicular, suero, células sanguíneas, bacterias y sus productos, células descamadas, hongos, restos de comida y restos de expectoraciones bronquiales.

### 6.2.2.1 FACTORES DE CARIOGENICIDAD DE *LACTOBACILLUS spp.*

- Poder acidógeno, acidófilo y acidúrico.
- Algunas especies sintetizan polisacáridos extra e intracelulares a partir de la sacarosa.
- Cierta, aunque escasa, actividad proteolítica. <sup>4,5,9 18</sup>

## 7. SALIVA

La saliva es una secreción compleja, líquido vital para la integridad de los tejidos duros y blandos de la cavidad bucal, la mezcla de fluidos bucales proviene principalmente de las glándulas salivales mayores: las parótidas que tienen una secreción acuosa rica en proteínas y las glándulas submandibulares con una secreción de bajo contenido proteínico y mayor viscosidad (93% de la secreción) y las glándulas menores que se encuentran distribuidas en toda la cavidad bucal producen el 7% de la secreción, que es una saliva viscosa y rica en factores de defensa como la inmunoglobulina A (IgA).

Adicionalmente, la saliva contiene un número de constituyentes como líquido crevicular, suero, células sanguíneas, bacterias y sus productos, células descamadas, hongos, restos de comida y restos de expectoraciones bronquiales.

## 7.1 COMPOSICIÓN DE LA SALIVA

La composición de la saliva depende de una variedad de factores fisiológicos, así como grado de estimulación, el sitio y el método de recolección.

Aproximadamente el 99% de saliva es agua. El 1% restante consiste de moléculas orgánicas grandes (Proteínas, glicoproteínas y lípidos), de moléculas orgánicas pequeñas (glucosa, urea) y de electrólitos (sodio, potasio, calcio, cloro y fosfatos).

## 7.2 FUNCIÓN DE LA SALIVA

La saliva tiene muchas funciones (Ver Cuadro 2), entre ellas la de proteger la integridad de la mucosa, eliminar restos alimenticios y bacterias de la cavidad bucal, neutralizar ácidos, acidificar bases y proveer de los iones necesarios para la remineralización de los tejidos dentarios. Además, tiene propiedades antibacterianas, antifúngicas y antivirales. Adicionalmente, los componentes de la saliva facilitan la masticación, la deglución, la fonación así como las funciones sensoriales de la cavidad bucal.

Durante el período de sueño producimos poca saliva, mientras estamos despiertos existen dos etapas de producción de saliva denominadas No estimulada (en descanso, el flujo salival normal es de 0.3 – 0.4 ml/min) y estimulada (principalmente por la masticación, el flujo salival normal es de 1 – 2 ml/min).

**Cuadro 2**  
**PRINCIPALES FUNCIONES DE LA SALIVA**

Funciones	Principales componentes salivales involucrados
<b>1. Funciones protectoras</b>	
<i>Lubricación</i>	Mucinas, glicoproteínas ricas en prolina, Agua.
<i>Antimicrobiana</i>	Proteínas salivales, lisozimas, lactoferrinas, lactoperoxidasas, IgA secretorias, glicoproteínas ricas en prolina
<i>Integridad de las Mucosas</i>	Mucinas, electrólitos, agua
<i>Lavado/limpieza</i>	Agua
<i>Amortiguación de ácidos</i>	Bicarbonato, Iones fosfato
<i>Remineralización</i>	Calcio, fosfato, staterina, proteínas aniónicas ricas en prolina
<b>2. Funciones relativas a la deglución y fonación</b>	
<i>Preparación del bolo</i>	Agua, mucinas alimenticio
<i>Digestión</i>	Amilasas, lipasas, ribonucleasas, Proteasas, Agua, mucinas
<i>Gustación</i>	Agua, células gustativas
<i>Fonación</i>	Agua, mucinas

Tomado de Carología 1997

### 7.3 NEUTRALIZACIÓN Y AMORTIGUACIÓN DE ÁCIDOS (CAPACIDAD BUFFER)

La propiedad de neutralizar y amortiguar los ácidos de la saliva se debe principalmente al sistema bicarbonato.

El sistema bicarbonato es bajo en la saliva no estimulada y aumenta a medida que la saliva es estimulada; junto a ello, el pH y la capacidad amortiguadora aumenta de manera importante.

Adicionalmente, en la saliva secretamos urea de forma constante, existiendo así, microorganismos de la placa, como el *Heamophilus parainfluenza*, que la descomponen en productos nitrogenados, amoniacos y dióxidos de carbono. Éste amoniaco también actúa como amortiguador de los ácidos.

La ingesta de azúcares causa una baja de pH en la placa dental, si luego de su ingesta, estimulamos el flujo salival masticando cera de parafina, goma de marcar sin azúcar o queso, hay un inmediato y dramático aumento en el pH y una disminución en los niveles de ácido láctico en la placa dental.

En la placa dental de pacientes resistentes a la caries, el pH antes del azúcar es mayor y la disminución del pH posterior al azúcar es menor. Por lo tanto, la capacidad buffer en pacientes resistentes a caries, es mayor que en pacientes susceptibles a la caries.

El rol protector de la saliva cada vez se reconoce con mayor importancia. Tanto sus beneficios como los de los cloruros deben ir juntos como coadyudantes en la prevención de la caries dental.<sup>21,27 28</sup>

## **8. PRUEBAS DE ACTIVIDAD DE CARIES IMPORTANCIA PARA EL DIAGNÓSTICO DEL RIESGO DE CARIES**

“La caries es una enfermedad infecciosa crónica, que ya está establecida en la boca mucho tiempo antes de producir secuelas o manifestaciones clínica en forma de lesiones visibles. El proceso de la enfermedad depende de un equilibrio entre la naturaleza e intensidad de los estímulos perjudiciales y, por otra parte, de la naturaleza e intensidad de la respuesta biológica del hospedador.”

Actualmente, el avance de las técnicas preventivas y diagnósticas hacen posible el tratamiento de la caries como enfermedad; en otras palabras, se puede identificar a los individuos que están más expuestos a desarrollar lesiones (alto riesgo) y, a través de medidas preventivas y terapéuticas, cambiar su potencial de contraer la enfermedad (bajo riesgo).

A nivel individual, el diagnóstico de riesgo de caries permite establecer un pronóstico y una planificación de los tratamientos preventivos y terapéuticos, así como la frecuencia en los controles.

El diagnóstico de alto riesgo se basa, como cualquier otra enfermedad, en una historia clínica, que comprende la anamnesis, la exploración física y pruebas complementarias.

En la anamnesis son importantes determinados factores entre los que destacan la edad, la situación social y profesional, el padecimiento de algunas enfermedades sistémicas o la ingesta de medicamentos que reduzcan el flujo salival. También se debe registrar la dieta del paciente.



La exploración aporta datos muy valiosos, y debe recoger el estado actual de la boca del paciente y su nivel de higiene oral. Un gran número de lesiones de caries, su localización en dientes y superficies que normalmente no están afectadas, así como la presencia de caries agudas y lesiones de manchas blancas son, todas ellas, indicativas de alto riesgo. Asimismo, la presencia de restauraciones defectuosas, prótesis y aparatos de ortodoncia aumentan el riesgo de caries.

Las “pruebas complementarias” para el diagnóstico del riesgo de caries son las “pruebas de actividad de caries”, que miden en qué grado están presentes determinados factores que favorecen la aparición de nuevas lesiones. Básicamente son pruebas salivales.

## **8.1 PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS**

Actualmente, las pruebas de actividad de caries más importantes son las microbiológicas, concretamente los recuentos en saliva de *estreptococos* del grupo *mutans* y *Lactobacillus spp.* Para que se puedan utilizar en la clínica, es importante que el método sea muy sencillo y fácil de realizar: Con este fin, algunas casas comerciales han diseñado dispositivos especiales que permiten al odontólogo conocer los niveles en saliva de estas bacterias en sus pacientes, ofreciendo la posibilidad de conocer su riesgo microbiológico, así como la evolución del mismo en función de sus medidas preventivas, terapéuticas y motivacionales.

### 8.1.1 RECuentOS DE *LACTOBACILLUS SPP* EN SALIVA

El método clásico, que consistía en emplear placas de agar Rogosa-Michell-Wisemann, como medio selectivo, inoculando saliva diluida de forma seriada, ha dado paso al sistema Dentocult LB®, que consta de una lengüeta de plástico recubierta de medio selectivo y conectada a un tapón de rosca que cierra un tubo transparente. Después de inocular la saliva e incubar durante el tiempo apropiado, se realiza la lectura de los resultados comparando la densidad de crecimiento de colonias de *Lactobacillus spp* de la lengüeta con una tabla de densidad ya establecida. Los resultados se interpretan en unidades formadoras de colonias por mililitro de saliva (ufc/ml).

Los recuentos elevados pueden ser un reflejo del número de caries abiertas o restauraciones defectuosas, o ambas. Asimismo, es un buen indicador de la frecuencia de consumo de hidratos de carbono fermentables.

### 8.1.2. RECuento DE ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO *MUTANS* EN SALIVA

Actualmente se realizan con un sistema llamado Dentocult SM® en tira, que consta de un vial de cristal con un medio de cultivo selectivo (*Mitis salivarius*) y una tira de soporte que está tratada en uno de sus extremos para que sea adherente. Antes de su utilización se introduce en el vial un disco de bacitracina, que ejerce un efecto antimicrobiano frente a otras bacterias que no son estreptococos del grupo *mutans*. La tira de soporte se impregna de saliva y se introduce en el medio selectivo, procediéndose a su incubación. La interpretación se realiza por densidad de crecimiento en

ufc/ml de saliva. Unos recuentos altos de esta bacteria indican un riesgo microbiológico muy elevado, debiendo el odontólogo controlar a este paciente con todos los medios que tenga a su alcance.

### **8.1.3 PRUEBAS DE SNYDER Y PRUEBAS DE ALBAN**

Además de las pruebas descritas anteriormente, que son microbiológicas propiamente dichas, existen dos pruebas de actividad de caries cuyo principio de actuación se basa en determinar la capacidad de las bacterias de la saliva para producir ácido cuando una muestra de saliva es inoculada en un medio con agar, rico en glucosa y contiene un indicador de pH. Los microorganismos de la saliva metabolizan la glucosa produciendo ácido, lo que origina un descenso del pH, que modifica el color verde original del medio, que vira al amarillo

Estas pruebas son las de Snyder y Alban, que no es más que una modificación simplificada de la anterior. Dicha modificación se basa en la inoculación de la saliva en la superficie del medio, y la lectura se efectúa determinando el cambio de pH en función de la profundidad.

Por el contrario en el test de Snyder, la saliva se mezcla con el medio de cultivo en sobrefusión a 45 grados centígrados. Los resultados se correlacionan con los niveles de *Lactobacillus spp* en saliva, y son muy útiles para evaluar los progresos conseguidos por los pacientes en programas de control de placa y dieta. Tanto los recuentos microbianos, como las pruebas de Alban y Snyder son eficaces para facilitar la motivación del paciente, ya que este puede ver sus progresos.

## 9. OTRAS PRUEBAS

Para ayudar a diagnosticar el riesgo de caries y controlar a los pacientes, existen diversas pruebas, entre las que, por su importancia, destacan la determinación del flujo salival y la capacidad de amortiguación, que son dos puntos de partida importantes para las funciones naturales de remineralización de los dientes después de la actuación del ácido, siendo ambos factores protectores.

La determinación del flujo salival tiene interés en pacientes que presentan signos clínicos de xerostomía (sequedad de boca, labios resecaos), considerándose de alto riesgo de presentar caries, por lo que su control deberá ser riguroso y minucioso.

La capacidad amortiguadora de la saliva es fundamental para neutralizar los cambios de pH producidos en la cavidad oral. En la actualidad existen sistemas comercializados de fácil utilización en clínica, como los sistemas Dentobuff® y Dentobuff en tira®. Una gran capacidad de amortiguación no indican una mayor protección, pero un valor bajo sí es indicativo de riesgo elevado.” 4.”

## 10. METODOLOGÍA

### 10.1. MATERIAL

#### I EQUIPO.

Unidad dental.

Espejo.

Explorador.

#### II MEDIOS DE CULTIVO.

Prueba Dentocult®. (Ivoclar®)

Dentocult LB, SM y Buffer en tira®.

#### III CRISTALERÍA.

Vaso de precipitado de vidrio graduado 5ml.

#### IV APARATOS.

Incubadora.

Autoclave.

Refrigerador.

Computadora.

Impresora.

#### V VARIOS

Hoja de recolección de datos.

Masking Tape.

Cinta testigo

Papel para envolver.

Rollos fotográficos.

Papelería.

Diskettes.

Guantes.

Cubreboca.

Bata.

## 10.2. MÉTODO

Se examinó a un grupo de 15 niños con Síndrome de biberón de 36 a 72 meses de edad que acudieron a las clínicas de pediatría de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México, para verificar la presencia de éste síndrome, empleando instrumental odontológico (espejo y explorador), se aplicó un cuestionario (Anexo I), enseguida se les realizó un test de actividad de caries, utilizando el método de Dentocult® para determinar número de *Streptococcus mutans* y de *Lactobacillus ssp.* en saliva con la ayuda en cada caso de un substrato selectivo. Así como, la determinación de la capacidad de amortiguación de la saliva.

## 10.3. TIPO DE ESTUDIO

Este estudio está clasificado como observacional descriptivo y transversal.

## 10.4. POBLACIÓN DE ESTUDIO Y MUESTRA

Los pacientes de este estudio tienen una edad aproximada de 24 a 72 meses, que presentan caries por el uso prolongado de biberón excluyendo aquellos que no presentaban las características de la caries por biberón y que además eran mayores de 72 meses.

Es una muestra de los pacientes que acudieron a las clínicas de pediatría de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

## 10.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

### **Criterios de inclusión:**

1. Pacientes que presenten las características de caries por biberón.
2. No haberse cepillado los dientes ni haber comido por lo menos una hora antes de la toma de la muestra.
3. Tener una edad de 24 a 72 meses.

### **Criterios de exclusión:**

- 1.-Pacientes que no presenten las características de caries por biberón.
- 2.-Pacientes que se hayan cepillado o comido antes de la toma de muestra.
- 3.-Pacientes que pasen de los 72 meses de edad.
- 4.- Pacientes que se encuentren bajo un tratamiento con antibióticos.

## 10.6. PROCEDIMIENTO

Se recopilaron algunos datos del paciente (Anexo I) y se realizó la exploración bucal, al término de ésta, el paciente se sienta en posición vertical y se procedió a realizar el test de actividad cariosa, llevando a cabo los siguientes pasos: (Anexo II).

- 1.- Se estimulo el flujo salival del paciente dando a masticar la pastilla de parafina durante 5 minutos. Se le pidió al paciente que la primera saliva acumulada la pasara.
- 2.- La siguiente saliva acumulada fue recolectada en un vaso de precipitado graduado, para determinar el flujo salival, la valoración de la capacidad amortiguadora de la saliva y realizar la siembra de saliva en los medios de cultivo de *S. mutans* y *Lactobacillus spp* del estuche Dentocult®.

- 3.- Se extrae el porta-agar del tubo de prueba.
- 4.- Se coloca una tableta de  $\text{NaHCO}_3$  en la base del tubo.
- 5.- Se retira con cuidado las láminas protectoras de ambas superficies de agar; no se deben de tocar las superficies de agar.
- 6.- Humectar con saliva completamente ambas superficies con ayuda de una pipeta, sin arañar las mismas. El porta-agar se debe mantener ligeramente inclinado.
- 7.- Se vuelve a colocar el porta-agar de nuevo en el tubo y se cierra bien, después se le da ligeramente una vuelta al tapón de rosca, para evitar que los gases producidos sean atrapados.
- 8.- Con un rotulador indeleble, rotular la tapa con el nombre del paciente y la fecha.
- 9.- Se procede a incubar la muestra a  $37^\circ \text{C}$ , por un lapso de 48 horas. El tubo debe mantenerse verticalmente.
- 10.- Después de extraer el tubo de la incubadora, se compara la densidad de las colonias de los *Streptococcus mutans* y de los *Lactobacillus spp* con las correspondientes tablas de densidad (Anexo II) ya establecidas por el método de Dentocult®.
- 11.- En el caso de la aplicación del Dentobuff (Anexo III) se extrae la tira de prueba del envase sin tocar el campo activo amarillo.



12.- Se coloca la tira de prueba con el campo activo hacia arriba sobre una superficie estable de papel secante.

13.- Se humecta todo el campo activo con la ayuda de una pipeta. Se deja gotear la saliva, sin que la pipeta toque el campo activo.

14.- Después de exactamente 5 minutos de tiempo de actuación, se compara el color del campo activo con el colorímetro (Anexo III), para determinar la capacidad amortiguadora de la saliva (imagen y cuadro ya establecido por Dentocult®).

Los colores azul y amarillo indicarán respectivamente una alta y baja capacidad de amortiguación de la saliva.

Un recuento de *Lactobacillus spp* y *Streptococcus mutans* superior a 10 UFC en saliva indicarán un alto riesgo de susceptibilidad a caries.

## 11. RESULTADOS

En los 15 niños examinados, la edad promedio fue de 47 meses. El niño más pequeño tenía 31 meses y el mayor 72, observándose que el 53% (8), son niños y el 47% (7) niñas (Tabla y Gráfica 1).

Respecto a los valores de estudio se observó que: (Ver Tabla de Variables) el promedio de uso de biberón por parte de los encuestados fue de 26 meses (Tabla y Gráfica 2), el 26% (4) hicieron uso de chupón con miel y biberón (Tabla y Gráfica 3), ésto aunado a la pobre higiene bucal, a la ingesta de líquidos endulzados en él, afectó a los dientes incisivos centrales y laterales superiores, así como, a los primeros molares, tanto superiores como inferiores.

El promedio de dientes cariados fue un 70%, siendo la arcada superior la más afectada y de ésta las superficies más dañadas se presentaron en los incisivos centrales, la cara mesial y distal, y en los incisivos laterales mesial y vestibular, asimismo, las caras oclusales de los primeros molares superiores e inferiores.

Cabe hacer mención que entre los niños examinados (Ver Tabla de Resultados), hubo uno que fue amamantado con seno materno hasta los 24 meses, presentando un patrón de caries similar al producido por el uso prolongado de biberón.

Al realizar las pruebas de susceptibilidad de caries utilizando el Dentocult®, obtuvimos que al incubar las muestras de saliva por espacio de 48 hrs. se mostraron los siguientes resultados: (Ver Tabla de Resultados) el 93% (14) presento valores superiores a  $10^5$  CFU/ml de saliva (unidades

formadoras de colonias por ml de saliva) de *Streptococcus mutans* y el 7% (1) presento un valor menor a  $10^5$ . (Tabla y Gráfica 4)

Respecto a *Lactobacillus spp* se observó el mismo perfil: el 93% (14) presento valores superiores a  $10^5$  UFC y solo el 7% (1) un valor menor a  $10^5$  UFC. (Tabla y Gráfica 5)

Estas variantes en *Streptococcus mutans* como en *Lactobacillus spp*, al realizar la inspección bucal se observó que en el paciente que hubo un valor mayor de *Streptococcus mutans* y una baja en *Lactobacillus ssp*, clínicamente no había una destrucción dental crónica y en el paciente que mostró valores inversos existía una destrucción crónica.

Los resultados en la capacidad buffer de la saliva mostraron lo siguiente: (Tabla y Gráfica 6) el 60% (8) de las muestras se determinó con capacidad buffer alta (azul), el 33% ( 5) fue media (verde) y el 7% (1) fue baja (amarillo). El flujo salival fue manejado en términos de ml/5min., observándose que el 6% (1) secretó 6 ml, el 47% (7) 5 ml, el 27% (4) 4ml y el 20% (3) 3ml, (Tabla y Gráfica 7) en promedio todas las muestras recolectadas presentaron un flujo salival de 4.4ml/5min.

Es importante señalar que el 66% (10) de los encuestados presentaron halitosis (Tabla y Gráfica 8) y el 34% (5) no la presento (Tabla y Gráfica 9), atribuyéndolo a que el 34% (5) refieren cepillarse 3 veces al día, el 46% (7) dos y el 20% (3) sólo una vez. (Tabla y Gráfica 10).

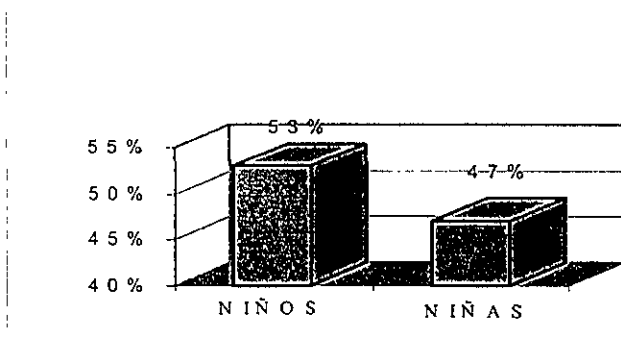
## 12. TABLAS

**TABLA 1: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LOS ENCUESTADOS POR GÉNERO F.O. UNAM 1999.**

EDAD	Niñas	Niños
2-3 AÑOS 9 MESES	3/15	2/15
4-4 AÑOS 9 MESES	2/15	4/15
5 AÑOS O MÁS	2/15	2/15
TOTAL	7	8
PORCENTAJE	47%	53%

FUENTE DIRECTA

**GRÁFICA 1: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LOS ENCUESTADOS POR GÉNERO F.O. UNAM 1999.**



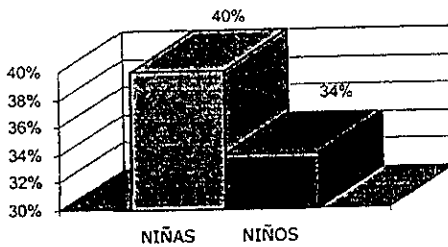
FUENTE DIRECTA

**TABLA 2: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE PACIENTES QUE UTILIZARÁN SOLAMENTE BIBERÓN POR UN LAPSO PROMEDIO DE 26 MESES F.O. UNAM 1999.**

BIBERÓN	NINAS	NINOS
	6	5
<b>TOTAL</b>	40%	34%

FUENTE DIRECTA

**GRÁFICA 2: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE PACIENTES QUE UTILIZARÁN SOLAMENTE BIBERÓN POR UN LAPSO PROMEDIO DE 26 MESES F.O. UNAM 1999.**



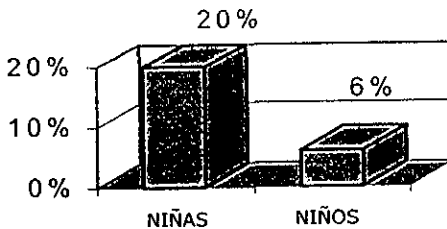
FUENTE DIRECTA

**TABLA 3: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE PACIENTES QUE UTILIZARON BIBERÓN Y CHUPÓN F.O. UNAM 1999.**

BIBERÓN Y CHUPÓN	NINAS	NINOS
	3/15	1/15
<b>TOTAL</b>	<b>20%</b>	<b>6%</b>

FUENTE DIRECTA

**GRÁFICA 3: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE PACIENTES QUE UTILIZARON BIBERÓN Y CHUPÓN F.O. UNAM 1999.**



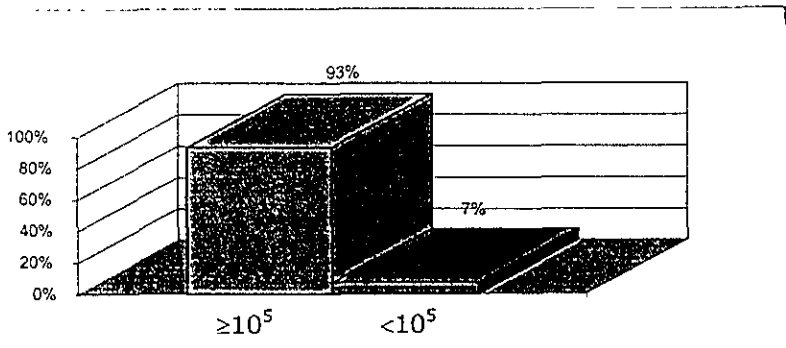
FUENTE DIRECTA

**TABLA 4: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE  
STREPTOCOCCUS MUTANS EN SALIVA (UFC/ml) F.O. UNAM  
1999.**

PACIENTES	U.F.C/ ml saliva	%
14/15	$\geq 10^5$	93%
1/15	$<10^5$	7%

FUENTE DIRECTA

**GRÁFICA 4: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE  
STREPTOCOCCUS MUTANS EN SALIVA (UFC/ml) F.O. UNAM  
1999.**



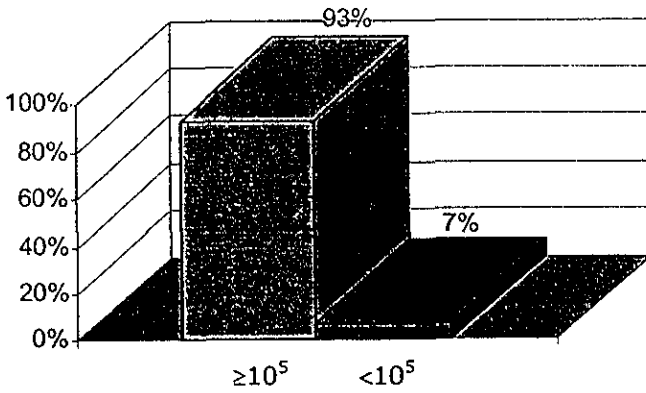
FUENTE DIRECTA

**TABLA 5: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LACTOBACILLUS spp EN SALIVA (UFC/ml) F.O. UNAM 1999.**

PACIENTES	UFC / ml saliva	%
14/15	$\geq 10^5$	93%
1/15	$< 10^5$	7%

FUENTE DIRECTA

**GRÁFICA 5: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LACTOBACILLUS spp EN SALIVA (UFC/ml) F.O. UNAM 1999.**



FUENTE DIRECTA

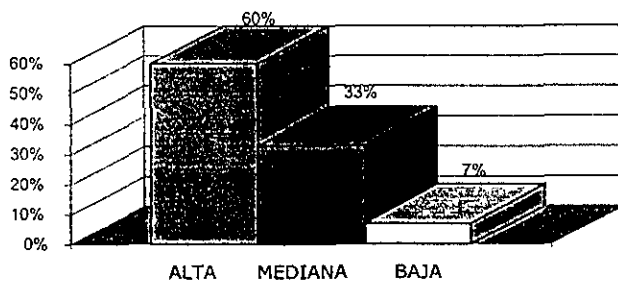


**TABLA 6: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LA CAPACIDAD BUFFER F.O. UNAM 1999.**

<b>PACIENTES</b>	<b>ALTA</b>	<b>MEDIANA</b>	<b>BAJA</b>
<b>15</b>	<b>8</b>	<b>5</b>	<b>1</b>
<b>TOTAL</b>	<b>60%</b>	<b>33%</b>	<b>7%</b>

FUENTE DIRECTA

**GRÁFICA 6: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LA CAPACIDAD BUFFER F.O. UNAM 1999.**



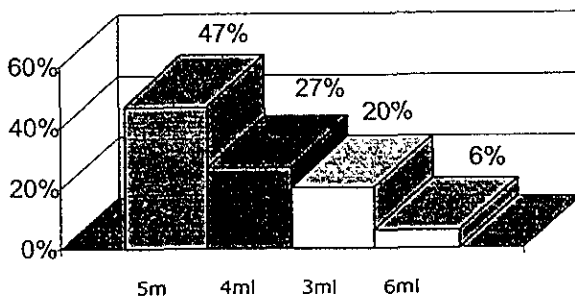
FUENTE DIRECTA

**TABLA 7: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DEL FLUJO SALIVAL(ml/5min) F.O. UNAM 1999.**

PACIENTE	3ml	4ml	5ml	6ml
15	3	4	7	1
TOTAL	20%	27%	47%	6%

FUENTE DIRECTA

**GRÁFICA 7: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DEL FLUJO SALIVAL(ml/5min) F.O. UNAM 1999.**



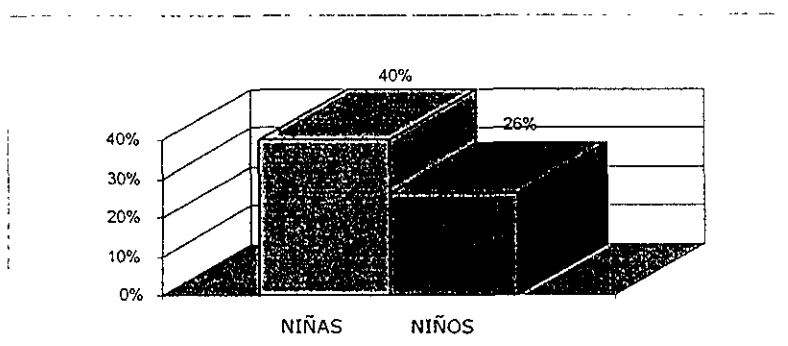
FUENTE DIRECTA

**TABLA 8: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LA PRESENCIA DE HALITOSIS F.O. UNAM 1999.**

<b>NINAS</b>	<b>NINOS</b>
6	4
40%	26%

FUENTE DIRECTA

**GRÁFICA 8: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LA PRESENCIA DE HALITOSIS F.O. UNAM 1999.**



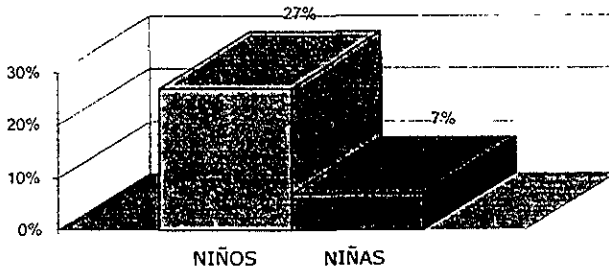
FUENTE DIRECTA

**TABLA 9: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LA AUSENCIA DE HALITOSIS F.O. UNAM 1999.**

NIÑAS	NIÑOS
1	4
7%	27%

FUENTE DIRECTA

**GRÁFICA 9: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LA AUSENCIA DE HALITOSIS F.O. UNAM 1999.**



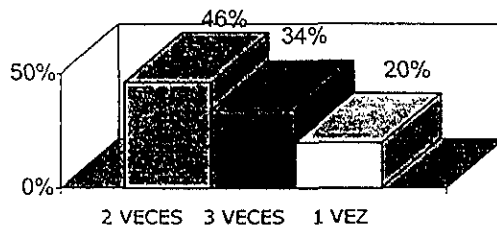
FUENTE DIRECTA

**TABLA 10: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LA FRECUENCIA DE CEPILLADO QUE REFIEREN LOS PACIENTES AL DÍA F.O. UNAM 1999.**

<b>PACIENTES</b>	<b>1 VEZ</b>	<b>2 VECES</b>	<b>3 VECES</b>
<b>15</b>	3	7	5
<b>TOTAL</b>	20%	46%	34%

FUENTE DIRECTA

**GRÁFICA 10: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LA FRECUENCIA DE CEPILLADO QUE REFIEREN LOS PACIENTES AL DÍA F.O. UNAM 1999.**



FUENTE DIRECTA

## TABLA DE VARIABLES

MUESTRA	GENERO	EDAD (MESES)	TIEMPO DE USO DE BIBERÓN	USO CHUPÓN	Nº DE DIENTES AFECTADOS	FX DE CEPILLADO (Nº DE VECES AL DÍA)	HALITOSIS
1	F	60	24 MESES	NO	14	3	NO
2	M	60	48 MESES	NO	12	3	NO
3	F	69	18 MESES	SI	4	2	SI
4	M	48	24 MESES	NO	6	3	SI
5	M	72	30 MESES	NO	4	3	NO
6*	F	45	24 MESES	NO	12	1	SI
7	M	42	24 MESES	NO	6	3	SI
8	F	56	29 MESES	SI	12	2	SI
9	M	50	24 MESES	NO	5	2	NO
10	F	55	20 MESES	NO	16	2	SI
11	M	32	29 MESES	SI	4	1	SI
12	F	36	29 MESES	NO	4	2	SI
13	M	56	21 MESES	SI	2	2	SI
14	M	55	17 MESES	NO	1	1	NO
15	F	31	24 MESES	NO	4	2	SI

\* Amamantado por pecho materno

## TABLA DE RESULTADOS

MUESTRA	S. MUTANS	LACTOBACILOS	CAPACIDAD BUFFER	FLUJO SALIVAL (ml/5min)
1 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	ALTA	5
2 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	ALTA	4
3 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	ALTA	6
4 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	MEDIANA	5
5 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	ALTA	3
6* 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	MEDIANA	5
7 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	MEDIANA	4
8 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	ALTA	5
9 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	ALTA	3
10 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	MEDIANA	5
11 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	ALTA	5
12 48 Hr	$< 10^5$	$\geq 10^5$	MEDIANA	3
13 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	ALTA	5
14 48 Hr	$\geq 10^5$	$\geq 10^5$	ALTA	4
15 48 Hr	$\geq 10^5$	$< 10^5$	BAJA	4

\* Amamantado por pecho materno

### 13. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio obtenidos mediante el método Dentocult® fueron similares a los reportes de otras poblaciones del mundo entre ellas, Japón, Suecia e Italia, donde la prevalencia de caries dental se encuentra asociada a la presencia de *S. mutans* y *Lactobacillus spp.*<sup>1,2,9,17</sup>

Durante la revisión bibliográfica se pudo apreciar que en investigaciones recientes en Okaya Japón, informaron que el predominio de caries aumenta con la edad y el crecimiento es especialmente rápido de 18 meses a 36 meses<sup>9</sup>. En estudios posteriores pudieron comprobar mediante el método de actividad de caries "Cariostat", que el número de *S. mutans* y *Lactobacillus spp.*, habían reducido, después de disminuir la ingesta de líquidos endulzados en biberón, modificar su dieta y conductas de cepillado.<sup>19</sup>

Así mismo en algunos otros reportes de estudios clínicos se determinó que la succión de biberón con líquidos endulzados en la fase temprana de la vida acelera la acumulación de *S. mutans* en boca, este es un factor de riesgo para presentar caries dental.<sup>20</sup>, estos hallazgos se fundamentan en investigaciones previas, así como, apoyo, validez y fiabilidad por las pruebas de actividad de caries que dan una visión del estado y susceptibilidad de caries como son: Cariostat y Dentocult.<sup>21</sup>.

Con la prueba de actividad de caries Dentocult®, se puede llevar un control adecuado de los niveles de *S. mutans* y *Lactobacilos spp.*, no solo en niños con Síndrome de Biberón, sino también predecir a aquellos que tendrán nuevas lesiones cariosas, y diagnosticar que las lesiones presentes sean agudas o crónicas.



## 14. CONCLUSIONES

-La caries se manifiesta por igual en niños y niñas. El rango de edad fue de 39 meses el más pequeño y de 72 meses el más grande.

En la mayoría se trataba del primer hijo o del menor, lo que nos indica la inexperiencia y la sobreindulgencia de los padres.

-El 90% de los niños de este estudio dormía con el biberón, lo que nos habla que este medio se usaba como pacificador y no sólo como el vehículo de alimentación.

-Los padres desconocían por completo la forma de usar el biberón, la eliminación de azúcares innecesarios, el tiempo adecuado para enseñar hábitos de higiene y de alimentación, erradicación del biberón, aplicaciones de fluoruro y orientación sobre salud bucal.

-Es necesaria la difusión y educación tanto a los padres como a todas las personas que tienen contacto con niños sobre esta entidad, para que conozcan la información de la caries por biberón y los medios de prevención que conserven la salud bucal de los niños.

-La prueba realizada de actividad de caries Dentocult® *S. mutans* y *Lactobacillus spp.*, nos dió como resultado niveles altos de estas bacterias en el Síndrome de Biberón.

-En los niños con Síndrome por Biberón (debido a su potencial de formar caries), es necesario eliminar o disminuir el empleo del biberón, golosinas y postres elaborados con azúcar. Llevar un control de los niveles

de *S. mutans* y *Lactobacillus spp*, así como, verificar continuamente la capacidad buffer de la saliva.

-Estos controles nos servirán para determinar si las lesiones presentes son activas o crónicas y poder predecir el comportamiento de la enfermedad cariosa, para entender su patogénesis.

-Dentocult® *Lactobacillus spp* y *S. mutans* es comercializado por Ivoclar® de México, sin embargo su empleo es mínimo, por lo que sería conveniente que los Cirujanos Dentistas y especialistas, lo usarán como parte integral del tratamiento de caries en niños que presenten el Síndrome motivo de este estudio, o en otras condiciones, como son xerostomía y pacientes susceptibles a caries, con lo cual se lograría dar una mayor y mejor difusión al uso de esta prueba.

La prueba Dentocult® tienen las siguientes ventajas:

- El método es práctico y el tiempo de análisis es corto.
- La prueba puede usarse para niños y su manejo es fácil.
- La prueba no requiere de conocimiento especial de equipo médico o de laboratorio.
- Las correlaciones positivas significantes entre las condiciones orales y las cuentas de colonias de *S. mutans* y *Lactobacillus spp*.
- La habilidad de predecir el riesgo de susceptibilidad cariosa.
- La composición del medio Dentocult puede mantenerse durante más de un año guardado, libre de la luz del sol y a temperatura 2-8°C (36-46°F).
- La prueba de Dentocult puede usarse para la educación del paciente en higiene oral, porque los pacientes pueden entender sus condiciones orales visualmente.

La única desventaja de utilizar Dentocult®, es que su costo es elevado.

## 15. ANEXOS

### ANEXO I

## FACULTAD DE ODONTOLOGIA

### U.N.A.M.

#### SEMINARIO DE MICROBIOLOGIA BUCAL

##### INFORMACION GENERAL

FECHA: \_\_\_\_\_

NOMBRE: \_\_\_\_\_ EDAD \_\_\_\_\_

FECHA Y LUGAR DE NACIMIENTO \_\_\_\_\_

SEXO \_\_\_\_\_ TELEFONO \_\_\_\_\_

¿ACTUALMENTE RECIBE ALGUN TRATAMIENTO MEDICO? SI ( ) NO ( )

DE QUE TIPO \_\_\_\_\_

MEDICAMENTOS EMPLEADOS \_\_\_\_\_

¿HA PADECIDO EL NIÑO ALGUNA DE LAS SIGUIENTES ENFERMEDADES?

ASMA	( )	SARAMPION	( )
CARDIOPATIAS	( )	ENF. RENAL	( )
ENF. HEPATICA	( )	TRASTORNO DEL LENGUAJE	( )
VARICELA	( )		
OTRAS	_____		

HIGIENE BUCAL \_\_\_\_\_

ESTADO DE HIGIENE AL MOMENTO DEL EXAMEN: BUENO ( ) REGULAR ( ) DEFICIENTE ( )

OLORES BUCALES \_\_\_\_\_ USO DE PASTA DENTAL \_\_\_\_\_

FRECUENCIA DE CEPILLADO \_\_\_\_\_ USO DE HILO DENTAL \_\_\_\_\_

*TIPO DE ALIMENTACION QUE ACOSTUMBRA*

DESAYUNO \_\_\_\_\_ COMIDA \_\_\_\_\_

CENA \_\_\_\_\_ ENTRECOMIDAS \_\_\_\_\_

¿ACTUALMENTE HACE USO DEL BIBERON? \_\_\_\_\_ ¿CON QUE FRECUENCIA? \_\_\_\_\_

¿DURANTE TODA LA NOCHE PERMANECE CON EL BIBERON? \_\_\_\_\_

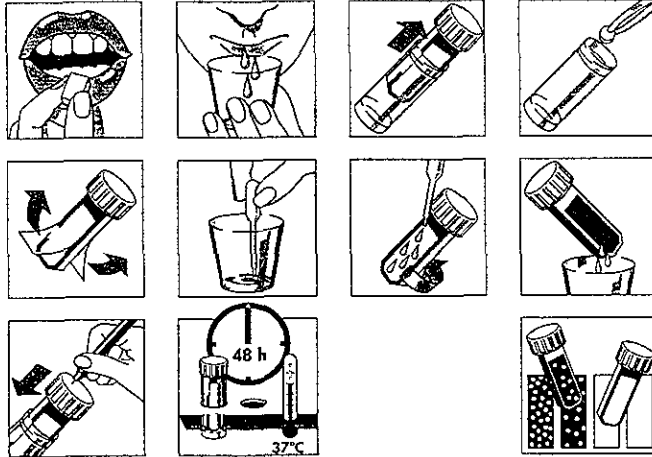
¿INGIERE LIQUIDOS ENDULZADOS? \_\_\_\_\_

¿USA CHUPON CON/SIN MIEL? \_\_\_\_\_

**VIVACARE LINE**  
**CRT bacteria**



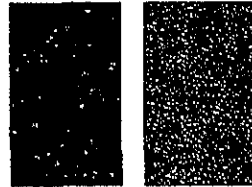
STEP BY STEP



Mutans Streptococci  
[CFU/ml saliva]

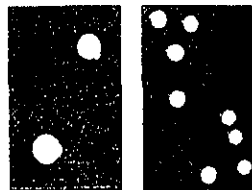


< 10<sup>5</sup>

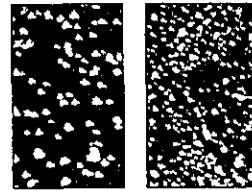


≥ 10<sup>5</sup>

Lactobacilli  
[CFU/ml saliva]



< 10<sup>5</sup>



≥ 10<sup>5</sup>

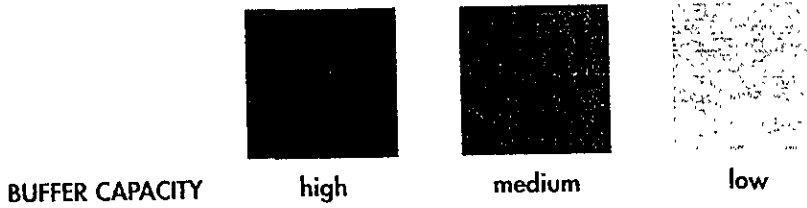
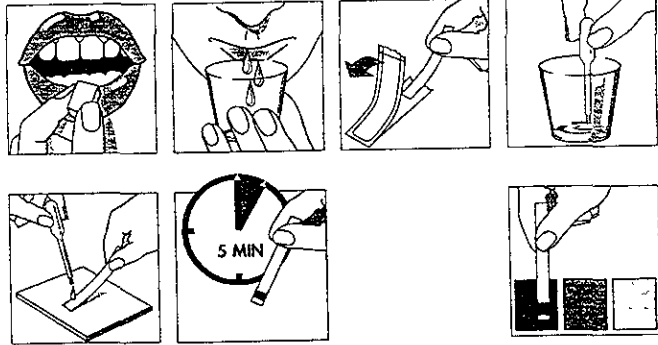
**≡ VIVADENT ≡**

ANEXO III

**VIVACARE LINE**  
**CRT** *buffer*



STEP BY STEP



**≡ VIVADENT ≡**

V5538773300 V04

## 16. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Tsubouchi, Higashi, Shimoto et al, "Baby bottle tooth decay and risk factors in 18 month old children", J: of Dentristry for Children, Pag 293-297, July-August, 1994.
- 2 Ozaki Matsuo, Nakae, et al, "A Quantitative comparison of selected bacteria in human carious dentine by microscopic counts", Caries Res, V-28, Pag 147-145, 1994.
- 3 Koch, Modeer, Puulsen, et al, Odontopediatria, Enfoque Clínico, "Caries Dental: Etiología, Características Clínicas y Epidemiológicas", Pag 76-78, Ed. Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 1994.
- 4 Lieban Ureña J. Microbiología Oral, "Microbiología de la Caries Dental" Pag 454-461, Ed. Interamericana, México, 1989.
- 5 Anders T., Caries "Estado Actual de los Tests de Actividad de la Caries", Pag 209-222, Ed. Doyma, Barcelona, España, 1988.
- 6 Mc Donald, Avery D., Odontología Pediátrica y del Adolescente, "Caries Dental en el Niño y el Adolescente", Pag 220-222, Ed. Panamericana, San José Buenos Aires, Argentina, 1990.
- 7 Ramírez Machuca Xóchitl, "Caries Dentaria", Niños Pediatra, Vol 8, N° 30, Pag 13-15, Marzo, 1999.

- 8 Molina F. Ingoyen M., "Streptococcus mutans y prevalencia de caries en una población escolar", *Práctica Odontologica*, Vol 17,Nº 8, Pag 19-24, 1994.
- 9 Nishimura, Bhuiyan, Matsumura, et al, "Assessment of the Caries Activity Test (Cariostat) Based on the Infection Levels of mutans Streptococci and Lactobacilli in 2 to 13 Year Old Children Dental Plaque", *J. Of Dentistry for Children*, Pag 248-251, July-August, 1998.
- 10 Matee, Mikx, Maselle, et al, "Mutans Streptococci and Lactobacilli in Breast-Fed Children with Rampant Caries", *Caries Res*, Vol26, Pag 183-187, 1992.
- 11 Hillman, Yaphe, Johnson, "Colonization of de Human Oral Cavity by a Strain of Streptococcus mutans", *J. Dent Res*, Vol 64, Nº 11, Pag 1272-1274, November, 1985.
- 12 Matee, Mikx, Soet, et al, "Mutans Streptococci in Caries active and Caries-Free Infants in Tanzania", *Oral Microbiol Immunol*, Vol 8, Pag 322-324, 1993.
- 13 Usha Antony, A.K. Munshi, "Sibling versus maternal S. mutans levels", *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, Vol 21, Nº2, Pag 145-150, 1997.
- 14 Meon Rusmah,"Unilateral rampant caries: and Unusual Presentation", *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, Vol 16, Nº 1, Pag 10-11, 1991.

- 15 O'Connell, BDentSc, BDS, PhD, "Influence of rampant caries in dams on caries activity in their offspring", *Pediatric Dentistry*, Vol 13, N° 6, Pag 361-366, Novemver-December, 1991.
- 16 Kreulen, De Soet, Hogeveen, et al, "Streptococcus. mutans and Nursing Bottle Children", *J. Of Dentistry for Children*, Pag 107-111, March-April, 1997.
- 17 Petti, Tomassini, Gatto, et al, "Su Tre Differenti Metodiche di Valutazione dello Streptococcus mutans nella Saliva", *Minerva Stomatol*, Vol 43, N° 3, Pag 95-101, 1994.
- 18 MacEntee, Wyatt and McBride, "Longitudinal Study of Caries and Cariogenic bacteria in an elderly disabled population", *Community Dent Oral Epidemiol*, Vol 18, Pag 149-152, 1990.
- 19 Newbrun E., *Cariología*, "Historia y Antiguas Teorias de la Caries", Pag 21-37, Ed. Limusa, México, 1984.
- 20 Bailer Scott, "Diagnóstico Microbiologico", Ed. Panamericana, Pag 351-355, Argentina, 1991.
- 21 Seif R, *Cariología: Prevención, Diagnóstico y Tratamiento Contemporáneo de la Caries Dental*, "Cariología", "Saliva" y "Aplicación Clínica de la Cariología, Niveles de Riesgo y Terapéuticas Preventivas", Pag 13-33, 217-239 y 277-314, Ed. Actualidades Medico Odontologicas Latinoamérica, Colombia, 1997.
- 22 Bralfam Raymond L., "Odontología Pédiatrica", Ed. Panamericana, 1984.



- 23 Magnusson Bengt O., Odontopediatria, Enfoque Sistemico, "Caries Dental en el Niño", Pag 113-119, Ed. Salvat, Barcelona, España, 1985.
- 24 Pinkham J.R., Odontología Pediátrica, "Examen del Lactante y de Niños de 1 a 3 Años de Edad", Pag 151-157, Ed. Interamericana, México, 1988.
- 25 Lynch Matthew, Stanley S., Métodos de Laboratorio, "Bacteriología Sistemica", Pag 933-934, Ed. Interamericana, México, 1990.
- 26 Koneman, Allen, Dowell, et al, Diagnóstico Microbiologico Texto y Atlas, Pag 413-428, Ed. Panamericana, México, 1997.
- 27 Nolte W.A., Microbiología Odontologica, Ed. Interamericana, Pag 80-81, 3ra. Edición México, 1982.
- 28 Nolte W.A., Microbiología Odontológica, Ed. Interamericana, Pag 649-653 y 757-759, 4ta. Edición México, 1985.
- 29 Stephen Moss, "Caries de la Temprana Infancia", Fdiwold, Vol 7, Pag 16-23, Abril, 1998.
- 30 Cadena, Llarena, Ojeda, et al, "Caries por Biberón", Práctica Odontologica, Vol 8, N° 1, Pag 6-12, Enero, 1987.