

01484



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

COMPARACIÓN DE MEDIOS DE USO BACTERIOLÓGICO Y SU APLICACIÓN
EN LA DETERMINACIÓN DEL RIESGO A CARIES.

TESIS QUE PRESENTA LA ALUMNA
M. EN C. TERESA LEONOR SANCHEZ PEREZ

PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTOR EN ODONTOLOGÍA

TUTOR

PhD Enrique A. Acosta Gío

ASESOR

PhD Ignacio Méndez Ramírez

247119

2000



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.

**COMPARACIÓN DE MEDIOS DE BACTERIOLÓGICO Y SU APLICACIÓN EN
LA DETERMINACIÓN DEL RIESGO A CARIES.**

APROBADO POR

**Dr. A. Enrique Acosta Gio
Director de la Tesis**

**Dr. Ignacio Méndez Ramírez
Asesor**

RECONOCIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a los directivos de la Facultad de Odontología y de la Unidad de Estudios de Posgrado e Investigación.

Al Dr. Javier Portilla Robertson, por su apoyo a lo largo de mis estudios de posgrado y sobre todo por su amistad.

Al Dr. Enrique Acosta Gío, por tantos años de trabajo juntos.

Al Dr. Ignacio Méndez, por su tiempo, profesionalismo, dedicación y sobre todo por enseñarme su filosofía de trabajo y compromiso, así como por su calidad humana.

Al Dr. Higinio Arzate, por su constante apoyo.

A mi esposo y mis hijos, por los años de paciencia, comprensión y por su apoyo. Pero sobre todo por creer en mi, por haberme estimulado cuando él animo decaía y por no haberme recriminado nunca el tiempo que no les dedique.

INDICE

1.	RESUMEN	1
2.	ABSTRACT	2
3.	INTRODUCCIÓN	3
4.	MARCO TEORICO	4
5.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
6.	OBJETIVOS GENERALES	13
	6.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS	13
7.	HIPOTESIS	15
8.	MATERIALES Y METODOS	16
	a. POBLACIÓN SUJETA A ESTUDIO	16
	b. MARCO DE MUESTREO, TIPO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA	17
	c. VARIABLES, DEFINICIONES OPERATIVAS Y ESCALAS DE MEDICION	18
	d. CAPTACIÓN DE LA INFORMACIÓN Y PROCEDIMIENTOS	20
	d'. MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	26
	e. MATERIAL Y EQUIPO EMPLEADO	26
	f. MÉTODOS DE REGISTRO Y PROCESAMIENTO	28
	g. ANÁLISIS DE LOS DATOS Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	28
9.	RESULTADOS	30
10.	DISCUSION	131
11.	PROPUESTAS DE INVESTIGACION A FUTURO	150
12.	APENDICE 1	151
13.	BIBLIOGRAFIA	170
14.	ANEXOS	180
	ANEXO 1. ELECCION DEL MEDIO DE CULTIVO PARA <i>S. mutans</i> EN UNA EVALUACION CUANTITATIVA.	180

ANEXO 2. COMUNICADO A LOS PADRES DE FAMILIA EN LA REUNION EN LA ESCUELA.	183
ANEXO 3. DETERMINACION DE LA EXPERIENCIA DE LA EXPERIENCIA CARIOGENICA.	184
ANEXO 4. DETERMINACION DE <i>S. mutans</i> EN SALIVA Y PLACA MEDIO MSB.	188
ANEXO 5. DETERMINACION DE <i>S. mutans</i> EN SALIVA Y PLACA MEDIO TSY20B.	191
ANEXO 6. DETERMINACION DE <i>S. mutans</i> EN SALIVA EN CALDO MITIS SALIVARIUS.	193
ANEXO 7. DETERMINACION DE <i>S. mutans</i> EN SALIVA EN CALDO DE SOYA TRIPTICASEINA.	196
ANEXO 8. DETERMINACION DE <i>Lactobacillus sp.</i> EN SALIVA Y PLACA MEDIO ROGOSA SL.	199
ANEXO 9. DETERMINACION DE LA VELOCIDAD DE ACIDIFICACION SALIVAL PRUEBA DE SNYDER.	201
ANEXO 10. PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DEL GRUPO <i>mutans</i> .	203

INDICE DE CUADROS Y GRAFICAS

Gráfica 1

ANALISIS DE VARIANZA CON PRUEBA DE TUKEY ENTRE EL NUMERO DE DIENTES PRESENTES EN LAS COHORTES.

Gráfica 2

ANALISIS DE VARIANZA SOBRE LA DISTRIBUCION DE LA DENTICION PERMANENTE PRESENTE (D.P.P.) EN LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Gráfica 3

ANALISIS DE VARIANZA ENTRE LA EXPERIENCIA INICIAL DE CARIES DENTAL (ceo+CPO) EN LAS COHORTES.

Cuadro 1

DISTRIBUCIÓN DE ÍNDICE DE CARIES DENTAL POR DIENTE Y SUPERFICIES DE LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Gráfica 4

COMPARACIÓN CON "t" APAREADA ENTRE LOS INDICES INICIALES Y FINALES DE CARIES POR COHORTE, UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA EL DIENTE.

Gráfica 5

COMPARACIÓN CON "t" APAREADA ENTRE LOS INDICES INICIALES Y FINALES DE CARIES POR COHORTE, UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA LA SUPERFICIE.

Cuadro/Gráfica 6

DISTRIBUCION DE LOS COMPONENTES DE LOS INDICES DE CARIES INICIALES Y FINALES EN LAS COHORTES.

Cuadro 2

DISTRIBUCIÓN DE LAS UFC DE *S. mutans* POR TIPO DE INOCULO REALIZADO.

Gráfica 7

COMPARACION CON "t" APAREADA ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* EN LOS MEDIOS SELECTIVOS DE CULTIVO INOCULADOS CON SALIVA (MSB/Sa vs TSY20B/Sa).

Gráfica 8

COMPARACION CON "t" APAREADA ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* EN LOS MEDIOS SELECTIVOS DE CULTIVO INOCULADOS CON PLACA DENTOBACTERIANA (MSB/PDB vs TSY20B/PDB).

Gráfica 9

REGRESION LINEAL CON CALCULO DE "t" APAREADA ENTRE LOS DOS TIPOS DE INOCULO PARA EL MEDIO MSB (SALIVA Y PLACA DENTOBACTERIANA).

Gráfica 10
REGRESION LINEAL CON CALCULO DE "t" APAREADA ENTRE LOS DOS TIPOS DE INOCULO PARA EL MEDIO TSY20B (SALIVA Y PLACA DENTOBACTERIANA).

Cuadro 3.
ACTIVIDAD DE CARIES Y UFC DE *S. mutans* ($\times 10^3$) EN SALIVA Y PLACA POR COHORTES.

Gráfica 11
PRUEBA DE NORMALIDAD DEL NÚMERO DE UFC DE *S. mutans* EN LOS BINOMIOS ESTUDIADOS.

Cuadro 4.
ACTIVIDAD DE CARIES Y UFC DE *S. mutans* ($\times 10^3$) EN SALIVA Y PLACA POR COHORTES UTILIZANDO LAS VARIABLES CON LA MEJOR TRANSFORMACION.

Gráfica 12
DISTRIBUCIÓN DE LAS UFC DE *S. mutans* DE LOS BINOMIOS EN CADA COHORTE.

Gráfica 13
COMPORTAMIENTO DEL NUMERO DE UFC DE *S. mutans* EN LOS BINOMIOS MEDIO/INOCULO UTILIZANDO LAS VARIABLES TRANSFORMADAS.

Gráfica 14 a
ANALISIS DE VARIANZA CON PRUEBA DE TUKEY ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* SALIVALES EN TSY20B Y LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Gráfica 14 b
ANALISIS DE VARIANZA CON PRUEBA DE TUKEY ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* SALIVALES EN MSB Y LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Gráfica 14 c
ANALISIS DE VARIANZA CON PRUEBA DE TUKEY ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* EN PLACA DENTOBACTERIANA EN TSY20B Y LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Gráfica 14 d
ANALISIS DE VARIANZA CON PRUEBA DE TUKEY ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* EN PLACA DENTOBACTERIANA EN MSB Y LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Cuadro 5
VALORES DE REGRESION LINEAL ENTRE EXPERIENCIA DE CARIES INICIAL Y FINAL VS MEDIOS Y TIPO DE INÓCULOS.

Cuadro 6
COHORTES VS NIVEL DE INFECCIÓN POR *S. mutans* EN CALDO MSB.

Gráfica 15 a
ANALISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA DISTRIBUCION DEL CALDO MITIS SALIVARIUS CON BACITRACINA Y LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Gráfica 15 b
ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE EL CALDO MITIS SALIVARIUS CON BACITRACINA Y LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Cuadro 7

RELACIÓN ENTRE LA INCIDENCIA DE CARIES DENTAL Y LA DISTRIBUCIÓN DEL NIVEL DE INFECCIÓN EN CALDO DE CULTIVO MSB.

Gráfica 16

ANÁLISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA INCIDENCIA DE CARIES DENTAL Y EL NIVEL DE INFECCIÓN EN CALDO DE CULTIVO MSB.

Cuadro 8

COHORTE VS NIVEL DE INFECCIÓN POR *S. mutans* CULTIVADO EN CALDO DE SOYA TRIPTICASEINA.

Gráfica 17

ANÁLISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA DISTRIBUCIÓN DEL CALDO DE SOYA TRIPTICASEINA Y LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Gráfica 18

ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE EL CALDO DE SOYA TRIPTICASEINA Y LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Cuadro 9

RELACIÓN ENTRE LA INCIDENCIA DE CARIES DENTAL Y LA DISTRIBUCIÓN DEL NIVEL DE INFECCIÓN EN CALDO SOYA TRIPTICASEINA.

Gráfica 19

ANÁLISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA INCIDENCIA DE CARIES DENTAL Y EL NIVEL DE INFECCIÓN EN CALDO DE SOYA TRIPTICASEINA

Cuadro 10.

TABLA DE CONTINGENCIA ENTRE EL CALDO MSB Y EL CALDO DE SOYA TRIPTICASEINA.

Gráfica 20

ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE LOS CALDOS DE CULTIVO EN MITIS SALIVARIUS Y SOYA TRIPTICASEINA.

Cuadro 11

CORRELACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO PARA IDENTIFICACIÓN DE *S. mutans* Y EXPERIENCIA INICIAL Y FINAL DE CARIES.

Cuadro 12

DISTRIBUCIÓN DE *Lactobacillus sp.* SALIVALES EN LAS COHORTES.

Gráfica 21

ANÁLISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA CANTIDAD DE UFC DE *Lactobacillus sp.* Y LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Gráfica 22

ANÁLISIS DE REGRESIÓN ENTRE EL NÚMERO DE UFC DE *Lactobacillus sp* Y LA EXPERIENCIA DE CARIES INICIAL Y FINAL.

Cuadro 13

DISTRIBUCIÓN DE LA ACTIVIDAD CARIGÉNICA DETERMINADA A TRAVÉS DE LA PRUEBA DE SNYDER EN CADA COHORTE.

Gráfica 23

ANÁLISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA CAPACIDAD DE ACIDIFICACIÓN DE LOS LACTOBACILOS EN EL MEDIO DE SNYDER Y LAS COHORTES.

Gráfica 24

ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE LA ACTIVIDAD CARIOGÉNICA Y LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Cuadro 14

INCIDENCIA DE CARIES POR RESPUESTA A LA PRUEBA DE SNYDER.

Gráfica 25

ANÁLISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA VELOCIDAD DE ACIDIFICACIÓN DE LOS LACTOBACILOS Y LA INCIDENCIA DE CARIES DENTAL.

Cuadro 15

VALORES DE REGRESIÓN LINEAL Y LOGÍSTICA ORDINAL ENTRE LAS PRUEBAS QUE UTILIZAN *Lactobacillus sp.** Y EL COMPORTAMIENTO DEL PROCESO CARIOSO.

Cuadro 16

IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE LOS STREPTOCOCOS EN LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Cuadro 17

DISTRIBUCIÓN DE LA INCIDENCIA POR BIOTIPIFICACIÓN DEL GRUPO STREPTOCOCOS.

Gráfica 26

DISTRIBUCIÓN DEL GRUPO MUTANS EN LAS COHORTES ESTUDIADAS.

Gráfica 27

DISTRIBUCIÓN DE LA INCIDENCIA Y LA BIOTIPIFICACIÓN DEL GRUPO STREPTOCOCOS.

Gráfica 28

CONFORMACIÓN DE LOS CONGLOMERADOS DE RIESGO UTILIZANDO LAS VARIABLES INDEPENDIENTES: 6 BINOMIOS MEDIO/INOCULO Y LAS 10 VARIABLES DEPENDIENTES DE LOS INDICES DE CARIES POR DIENTES/ SUPERFICIE Y COMPONENTES DE LOS INDICES.

Cuadro 18

CARACTERIZACIÓN DE LAS TIPOLOGÍAS DE RIESGO.

Cuadro 19

CARACTERIZACIÓN DE LAS TIPOLOGÍAS DE RIESGO EN RELACIÓN CON EL PROMEDIO DE LOS COMPONENTES DE LOS INDICES.

Cuadro 20

CARACTERIZACIÓN DE LAS TIPOLOGÍAS DE RIESGO CON RELACIÓN A LAS VARIABLES ESTANDARIZADAS DE UFC EN LOS MEDIOS DE CULTIVO.

Gráfica 29

CARACTERÍSTICAS DEL COMPORTAMIENTO DE LAS VARIABLES QUE CONFORMARON LAS TRES TIPOLOGÍAS DE RIESGO.

Cuadro 21

TABLA DE CONTINGENCIA ENTRE LAS COHORTES ASIGNADAS Y LAS TIPOLOGIAS DE RIESGO.

Gráfica 30

ANALISIS DE CORRESPONDENCIAS ENTRE LA COHORTE INICIAL Y LAS TIPOLOGIAS DE RIESGO.

Cuadro 22

CARACTERIZACION DE LAS TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD.

Gráfica 31

EXPERIENCIA FINAL DE CARIES POR DIENTES/SUPERFICIE Y RAZON DE DIENTE/SUPERFICIES CON INCIDENCIA SEGUN TIPOLOGIA DE RIESGO.

Cuadro23

CARACTERIZACION DE LAS TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD EN RELACION CON EL PROMEDIO DE LOS COMPONENTES DE LOS INDICES Y LA INCIDENCIA

Gráfica 32

CARACTERIZACION ESTANDARIZADA DE LAS VARIABLES QUE CONFORMARON LAS TRES TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD.

Cuadro 24

TABLA DE CONTINGENCIA ENTRE LAS COHORTES ASIGNADAS Y LAS TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD.

Gráfica 33

ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE LA COHORTE INICIAL Y EL RIESGO REGISTRADO EN LOS NIÑOS ESTUDIADOS.

Gráfica 34

EXPERIENCIA FINAL DE CARIES POR DIENTE/SUPERFICIE Y RAZON DE DIENTES/SUPERFICIES CON INCIDENCIA SEGUN TIPOLOGIA DE MORBILIDAD.

Cuadro 25

TABLA DE CONTINGENCIA ENTRE LAS TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD Y LAS TIPOLOGIAS DE RIESGO.

Gráfica 35

ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE LAS TIPOLOGIAS DE RIESGO Y LAS TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD.

Gráfica 36

VARIABLES INICIALES QUE OBTUVIERON DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS CUANDO SE ASOCIARON CON LAS TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD.

Gráfica 37

VARIABLES FINALES QUE OBTUVIERON DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS CUANDO SE ASOCIARON CON LAS TIPOLOGIAS DE RIESGO.

Gráfica 38

CARACTERIZACIÓN DE LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE RIESGO CON LAS VARIABLES INICIALES DE LOS INDICES DE CARIES.

Gráfica 39

EXPERIENCIA FINAL DE CARIES POR DIENTE/SUPERFICIE Y RAZON DE DIENTES/SUPERFICIES CON INCIDENCIA SEGUN TIPOLOGIA CON SELECCIÓN DE VARIABLES.

Gráfica 40

COMPORTAMIENTO DE PROMEDIOS FINALES DE LOS INDICES DE CARIES POR TIPOLOGIA SELECCIONADA DE RIESGO.

Gráfica 41

PROMEDIOS FINALES DE LOS COMPONENTES DE LOS INDICES DE CARIES POR DIENTE Y SUPERFICIE EN LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE RIESGO.

Gráfica 42

ASOCIACION DE CADA UNO DE LOS BINOMIOS MEDIO/INOCULO ENTRE LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE RIESGO

Gráfica 43

ASOCIACION DE CADA UNO DE LOS BINOMIOS MEDIO/INOCULO ENTRE CADA UNO DE LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE MORBILIDAD.

Cuadro 26

CARACTERIZACION DE LA TIPOLOGIA SELECCIONADA DE RIESGO CARIOGÉNICO.

Cuadro 27

CARACTERIZACIÓN DE LA TIPOLOGIA SELECCIONADA DE RIESGO BACTERIANO.

Cuadro 28

CARACTERIZACION DE LA TIPOLOGIA SELECCIONADA DE MORBILIDAD.

Cuadro 29

ASOCIACION ENTRE LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE MORBILIDAD Y LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE RIESGO

Gráfica 45.

ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE RIESGO Y LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE MORBILIDAD

CUADROS Y GRAFICAS DEL APENDICE 1.**Cuadro 1ª**

DISTRIBUCION POR EDAD Y SEXO DE LA POBLACION.

Gráfica 1

DISTRIBUCIÓN POR EDAD Y SEXO DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA.

Gráfica 2

ANALISIS DE VARIANZA ENTRE EL NUMERO TOTAL DE DIENTES PERMANENTES PRESENTES (NTD) POR EDAD.

Gráfica 3

ANALISIS DE VARIANZA DE LA DISTRIBUCION DE LA DENTICIÓN PERMANENTE PRESENTE (D.P.P.) POR EDAD

Cuadro 2ª

PROMEDIOS DE LOS INDICES DE CARIES DENTAL INICIAL Y FINAL POR EDAD EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA EL DIENTE.

Gráfica 4

COMPARACION CON "I" APAREADA DE LOS INDICES DE CARIES INICIALES Y FINALES POR EDAD UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA EL DIENTE

Cuadro 3ª

PROMEDIOS DE LAS SUPERFICIES AFECTADAS INICIALES Y FINALES POR EDAD EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA LA SUPERFICIE.

Gráfica 5

COMPARACIÓN DE "I" APAREADA Y LOS INDICES DE CARIES INICIALES Y FINALES POR EDAD UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA LA SUPERFICIE.

Cuadro 4ª

PROMEDIO DE *S. mutans* POR EDAD, TIPO DE INOCULO Y MEDIO DE CULTIVO.

Gráfica 6

DISTRIBUCIÓN DE LAS UFC DE *S. mutans* SALIVAL EN MSB POR EDAD.

Gráfica 7

DISTRIBUCIÓN DE LAS UFC DE *S. mutans* DE PLACA DENTOBACTERIANO EN MSB POR EDAD.

Gráfica 8

DISTRIBUCIÓN DE LAS UFC DE *S. mutans* SALIVAL EN TSY20B POR EDAD.

Gráfica 9

DISTRIBUCIÓN DE LAS UFC DE *S. mutans* DE PLACA DENTOBACTERIANA EN TSY20B POR EDAD.

Gráfica 10

CARACTERIZACION DE LA DISTRIBUCIÓN DEL BINOMIO MEDIO/INOCULO EN LAS EDADES ESTUDIADAS.

1. RESUMEN

El propósito del presente estudio fue identificar el conglomerado de marcadores clínicos y bacteriológicos, que puede ser utilizado como el mejor predictor de riesgo a caries.

Sesenta niños entre 8 y 10 años de edad seleccionados aleatoriamente para conformar tres cohortes de tamaño equivalente: libre de caries, caries leve y caries alta.

Siguiendo los criterios de la O.M.S., se registró la experiencia de caries por diente (ceo-d y CPO-D) y superficie (ceo-s y CPO-S). La incidencia de caries se registró después de 18 meses y se correlacionó con los marcadores bacteriológicos.

Los conteos de *S. mutans* en saliva y placa se obtuvieron en MSB y TSY20B, el conteo de *Lactobacillus* se obtuvo en agar Rogosa SL. La velocidad de acidificación salival se realizó a través de la prueba de Snyder.

El coeficiente de correlación de Pearson reveló que el conteo de *S. mutans* de placa dentobacteriana inoculada sobre TSY20B, muestra la mayor correlación estadística con la experiencia de caries inicial ($P < 0.000$) y final ($P < 0.004$).

El análisis de contingencia demostró los mayores valores predictivos ($P < 0.0000$, $R^2 = 36.4\%$) para el grupo de marcadores que incluye: ceo+CPO-D, ceo+CPO-S, total de dientes cariados, conteo de *S. mutans* en TSY20B/ PDB, conteo de *Lactobacillus sp* en saliva sobre Rogosa SL, y el resultado de la prueba de Snyder.

Este modelo obtuvo una sensibilidad del 0.95 y una especificidad del 0.84.

Palabras clave: caries dental, medios de cultivo, *S. mutans*, *Lactobacillus sp*, prueba de Snyder, riesgo a caries.

2. SUMMARY

The aim of this investigation was to identify a cluster of clinical and bacteriological markers, which could provide the most accurate caries risk predictor.

Sixty children, 8 to ten years old, were randomly selected to create three equally sized cohorts: caries free, low caries and high caries.

Following World Health Organization criteria, caries experience was registered by tooth (dmf-t and DMF-T) and by surface (dmf-s and DMF-S). Caries incidence in the cohorts was assessed after 18 months and correlated to laboratory markers.

S. mutans counts in plaque or saliva were obtained on MSB and TSY20B. *Lactobacillus sp.* counts were obtained on Rogosa SL agar. Snyder test was applied to assess the acidifying potential of saliva.

Pearson's correlation revealed that when dental plaque was inoculated on TSY20B, the *S. mutans* counts showed the highest statistical correlation with initial ($P < 0.000$) and final ($P < 0.0004$) caries experience.

Contingency analysis demonstrated the highest predictive values ($P < 0.0000$, $R^2 = 36.4\%$) for the group of markers including: dmf-t+DMF-T, dmf-s+DMF-S, total decayed teeth, *S. mutans* counts from plaque on TSY20B, *Lactobacillus sp.* counts from saliva on Rogosa SL, and Snyder test results.

This diagnostic model showed a sensitivity of 0.95 and a specificity of 0.84.

Key words: dental caries, culture media, *S. mutans*, *Lactobacillus sp.*, Snyder test, caries risk.

3. INTRODUCCIÓN

La caries dental en los países industrializados está declinando, mientras que se posee poca información sobre este proceso en los países en vías de desarrollo.

Aún así, estudios epidemiológicos y clínicos sugieren que la distribución de la caries dental en cualquier población no es uniforme. Se desprende de esta premisa, que los programas preventivos y de atención donde se trata de brindar servicios a grandes sectores de la población, no pueden ser globalizadores ni indiscriminados, debido a que por esta peculiaridad son ineficientes y antieconómicos, por cuanto dedican una cantidad sustancial de tiempo y recursos para proteger personas que no lo necesitan. Mientras aquellos que tienen necesidades de atención, se verían beneficiados por programas intensivos, y que no lo reciben por falta de recursos adecuados y suficientes.

Por lo cual un programa de odontología preventiva, para que sea eficiente y efectivo, requiere de que existan medios para identificar a aquellos individuos de la población que presentan un riesgo mayor de contraer la enfermedad.

La búsqueda de métodos idóneos para predecir la caries dental no es nueva y a lo largo de muchos años, ninguna de las pruebas de medición de actividad de caries descritas, tiene un valor predictivo importante. Sin embargo la determinación de grupos de riesgo sigue siendo factible, y es la mejor alternativa para los países en vías de desarrollo, debido a que es una estrategia viable para la optimización de recursos humanos y financieros.

La evaluación de la microflora bucal es el área donde más intentos se han producido para predecir este riesgo, surgiendo una variedad de métodos para poder realizar la cuantificación de los microorganismos, que con esta enfermedad se asocian, sin embargo y precisamente ante esta diversificación es que se dificulta, tanto elegir los métodos, como la técnica idónea.

Siendo el propósito del presente estudio aportar elementos de análisis sobre este tópico.

4. MARCO TEORICO

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

En 1924¹ se aislaron algunos organismos de las lesiones cariosas de humanos y se les denominó *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), debido a que presentaban una forma más oval que la de los demás microorganismos del grupo, se consideró que debían ser formas de mutación de los *Streptococcus*; sin embargo otros investigadores de la época fueron incapaces de encontrarlos y estos microorganismos pasaron inadvertidos hasta aproximadamente, la década de los años 60's.

El desarrollo científico evidenció que la caries dental es una enfermedad infecciosa y transmisible causada por bacterias que colonizan la superficie dentaria². El desarrollo de la lesión cariosa es multifactorial, éste proceso se inicia cuando a partir de la ingestión de sacarosa en la dieta, los microorganismos metabolizan glucosa y liberan ácidos orgánicos, como el ácido láctico (entre otros), que ocasionan la disolución del esmalte.

Las evidencias de que los microorganismos son esenciales en la producción de caries, se han demostrado en el ámbito experimental, los animales exentos de gérmenes no desarrollan caries dental cuando se alimentan con una dieta altamente cariogénica, pero se desarrolla la enfermedad cuando en las mismas condiciones se introducen bacterias.³⁻⁶

Posteriores análisis bacteriológicos han demostrado que la placa dentobacteriana (PDB) que recubre los sitios donde hay caries de esmalte, muestran predominio de organismos acidógenos que, en presencia de un substrato adecuado producen una cantidad tal de ácidos que el esmalte sé desmineraliza.⁷⁻¹¹

Evidencias proporcionadas por varios investigadores,^{7,9-12} sugieren que la producción de ácidos en la PDB, es la más importante actividad en la patogénesis de la caries dental. La cual se ve influida por la frecuencia de la ingesta de carbohidratos, produciendo un pH bajo lo que ocasiona que el esmalte adyacente sufra desmineralización.¹³⁻¹⁷

La demostración de la especificidad de las bacterias en la caries dental se ha visto dificultada por la complejidad y variabilidad de la flora de la PDB.

En modelos animales los microorganismos que han demostrado ser cariogénicos en mayor o menor proporción son: las especies homo y heterofermentativas, entre las más frecuentes están tres tipos de estreptococos: *Streptococcus mutans*, *S. salivarius* y *S. sanguis*, que son acidógenos y acidófilos y dos tipos de lactobacilos: cepas de *Lactobacillus casei* y de *L. acidophilus*, estos microorganismos se encuentran a niveles bajos en la PDB, comprendiendo menos del 1% del total de microorganismos cultivables siendo también muy acidogénicos.¹⁸⁻²¹

Existe literatura implicando al número de lactobacilos presentes en PDB, o saliva en el desarrollo de la caries dental.^{7,14,22} Una estimación del número de lactobacilos en PDB o en saliva, se puede obtener con el uso de medios selectivos, que al asociarse con la incidencia de caries, han permitido que sean utilizados como indicadores del riesgo cariogénico.²³⁻²⁵

Actualmente estas pruebas se usan como monitoreo dietético, ya que algunos ensayos han demostrado, que recuentos altos de lactobacilos correlacionan en forma positiva con la ingesta de carbohidratos y por lo tanto, con el potencial ácido de la PDB.²⁵

Diversos investigadores^{14,26,27} han demostrado en series de estudios microbiológicos, que el *S. mutans* es la especie que se asocia con mayor certeza a la iniciación de la caries en el ser humano. El *S. mutans* posee características tanto de actividad bioquímica como fisiológica, que se asocian con la cariogenicidad; a continuación se describe brevemente las evidencias en humanos y en el ámbito de experimentación que soportan tales juicios.

- **Investigaciones sobre carbohidratos en la dieta.** Las observaciones epidemiológicas²⁸⁻³⁰ indican, que poco tiempo después de introducir carbohidratos a la dieta normal (sacarosa) se presenta un notable incremento en la incidencia de caries. Como ejemplo están los estudios en esquimales,³¹ en tahitianos,³² en niños de casas hogar³³ y el característico estudio de Vipeholm,³⁴ mostrando que la caries dental se incrementa drásticamente cuando se introducen los carbohidratos refinados a la dieta, siendo sus conclusiones:

- el azúcar incrementa el riesgo de la actividad cariosa y esta es mayor si se ingiere en una preparación pegajosa,
- el riesgo aumenta si el azúcar se toma entre comidas, en forma pegajosa,

- el incremento de la caries bajo condiciones uniformes muestra variación individual,
- la incidencia de caries desaparece con el retiro de alimentos pegajosos de la dieta, y
- que la caries todavía se produce en ausencia de azúcar refinada, azúcares naturales y carbohidratos de la dieta normal.³⁴

Investigaciones en modelos animales. Los experimentos desarrollados en éstos modelos^{1,2} ofrecieron la primera y definitiva evidencia de la especificidad bacteriana, los estudios demostraron que aislando *S. mutans* de seres humanos e inoculando con ellos a animales de experimentación, estas bacterias son cariogénicas.³⁵ Una de las observaciones iniciales mas importantes fue, que la producción de ácido *per se* no es la única determinante de la caries dental, ya que una sobresaturación de ácidos bacterianos en ratas no produce caries.^{3,36}

En éste sentido alrededor de 30 microorganismos acidógenos han sido evaluados en ratas gnobióticas y solamente *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. rattus*, *L. casei*, *S. faecalis*, *S. sanguis*, *S. salivarius* y *L. acidophilus* son capaces de causar caries,^{19,37-40} demostrando también que el *S. mutans* causa extensas zonas cariosas tanto en fisuras y fosetas como en superficies lisas.⁴¹

Metabolismo de los carbohidratos por el *S. mutans*. El metabolismo energético y sus resultantes en el *S. mutans* son complejos, pero no existe duda que el mejor sendero para su conocimiento es el análisis de éste proceso: cuando existen carbohidratos en exceso hay una gran producción de ácido láctico y otros ácidos (acético, propiónico y butírico) a partir de la fermentación de los carbohidratos que son provistos en la dieta normal. Sin embargo, cuando los carbohidratos penetran a la célula solamente un pequeño porcentaje de estos (menos del 10%), es transformado por las hexostransferasas en un polímero de glucosa que tiene la capacidad de adherirse a las superficies lisas de los dientes; este glucano de alto peso molecular se une a la hidroxiapatita circundante, actuando como aglutinina y permitiendo la coagregación de bacterias.⁴¹⁻⁴⁵

Esta capacidad de coagregar microorganismos, es un mecanismo importante para la retención de bacterias en la cavidad bucal, permitiendo que especies normalmente no adherentes al diente o, a la mucosa puedan persistir, esta adhesividad

y la velocidad en la formación de la PDB son parte de los factores más importantes en el desarrollo de la caries.⁴¹

Acompañando este fenómeno,⁴⁶ cuando se toman muestras de *S. mutans* de diferentes lugares de la boca (diversos sitios de caries, o de saliva en individuos con o sin caries activa) se observa que existe heterogeneidad serológica (8 serotipos), en este grupo de microorganismos los cuales se pueden reconocer basándose en su carbohidrato antigénico y en su ácido desoxirribonucleico, revelando la existencia de seis grupos genéticos.

Genoespecies del grupo *mutans*: *S. mutans* presenta cepas que poseen antígenos *c*, *e*, y *f*. Entre el 70 y el 100% de los *S. mutans* aislados en seres humanos pertenecen al serotipo *c*. Se han aislado también en humanos *S. mutans* que poseen carbohidratos antigénicos *g* y *h* a los cuales se les denomina *S. sobrinus* y *S. downei* respectivamente.

La denominación de *S. rattus* (serotipo *b*) y *S. cricetus* (serotipo *a*) ha sido asignada a los estreptococos del grupo *mutans* aislados en laboratorio repetidamente en PDB de ratas y hámsters respectivamente y sólo ocasionalmente en PDB de seres humanos. El serotipo *c* del *S. mutans* ha sido aislado en ratas salvajes o silvestres, a esta inconexión genética del *S. mutans* y a otras de estas nuevas especies se les ha denominado *S. ferus*. También a una cepa del serotipo *c* que ha sido aislada en monos con evidencias de diferencias con el *S. mutans* de seres humanos, ha permitido proponer una nueva especie el *S. macacae*.^{41,46}

En la siguiente tabla tomada de Walter Loesche,⁴⁶ se presentan las diferentes características del grupo *mutans* que permitieron generar esta nueva clasificación.

	Characteristic										
	Cannogenic		G+C	Serotype (s)	Cell Wall carbohydrates	Acid production from:			Resistance to Bacitracine	Arginine Hydrolysis	Predominant glucan ^a
	Animals	Humans	DNA content (mol %)			Raffinose	Starch	Inulin			
<i>S. Mutans</i>	+	+	36-18	c,e,f	Glucose, rhamnose	+	-	+	+	-	D>M
<i>S. Sobrinus</i>	+	?	44-46	d,g,h	Glucose, galactose, rhamnose	-	-	-	+	-	M>D
<i>S. Cricetus</i>	+	-	42-44	a	Glucose, galactose, rhamnose	+	-	+	-	-	M>D
<i>a Rattus</i>	-	-	41-43	b	Galactose, rhamnose	+	-	+	+	+	D>M
<i>S. Ferus</i>	-	-	43-45	c	?	-	+	+	-	-	
<i>S. Macacae</i>	?	?	35-36	c	Glucose, rhamnose	+	-	-	-	-	

^a Data were taken from information contained in references 17, 31, 53-55, 75, 131, 185, 241, 269, 297 and 298. G+C, guanine + cytosine content

^b D: Dextran Type: water-soluble glucan; M: mutan type: water-insoluble glucan

S. mutans, *S. sobrinus*, *S. rattus* y *S. cricetus* son cariogénicos en modelos animales,⁴⁷ su similitud en patogénesis a llevado a la mayoría de los investigadores a llamar a estos estreptococos con el epíteto generalizado de *S. mutans*, aunque en el ámbito de diagnóstico bioquímico, tal como se describe en el cuadro, son diferentes.

Ahora bien, se considera que el grupo *mutans* tiene dentro de los factores de mayor virulencia, el de su capacidad para producir polisacáridos extracelulares, llamados glucanos y fructanos, por medio de la acción de la glucosyl-transferasa y de la fructosyl-transferasa. Estos polisacáridos, especialmente los glucanos se han considerado como los más importantes en la formación de la PDB y por ende en la patogénesis de la caries, porque son insolubles al agua y poseen una marcada capacidad para inducir la adherencia de estas bacterias a superficies lisas.^{41,48-51}

Por otro lado, muchas bacterias de la PDB pueden también sintetizar polisacáridos intracelulares a partir de concentraciones elevadas de carbohidratos. La mayoría de los estreptococos del grupo *mutans* pueden almacenar polisacáridos intracelulares, lo que contribuye a la patogenicidad del microorganismo.^{41,46,52,53} Este almacenaje es el origen del ácido cuando los carbohidratos exógenos no son suficientes o están ausentes. Las cepas de serotipos *d* y *g* (*S. sobrinus*) producen y metabolizan menos polisacáridos extracelulares que las cepas de los serotipos *c* y *e* (*S. mutans*), consideradas como las más cariogénicas.⁵⁴

Otros autores consideran que el grupo *mutans* posee además de estos, una serie de factores de virulencia, como crecer y sobrevivir a pH bajos.⁵⁵⁻⁵⁶

Cabe señalar que cuando el pH es neutral, los minerales pueden retornar a la estructura dentaria a partir de los niveles de calcio, fósforo y fosfatos presentes en la saliva. El balance entre la pérdida y obtención de minerales es conocido como desmineralización - remineralización y depende de la frecuencia y la duración de niveles bajos de pH.¹¹⁻⁵⁷ El pH mínimo, o sea el pH más bajo que se alcanza, es en individuos con caries activas vs en individuos con actividad de caries reducida, como queda demostrado en la curva creada por Stephan en 1944.⁵⁸

Después de ingerir carbohidratos fermentables, el pH de la PDB puede caer hasta 4 en cuestión de minutos y toma de 10 a 30 minutos para regresar a la neutralidad. Después de esta violenta caída, el lento retorno al pH de reposo puede verse truncado si hay alguna nueva administración de carbohidratos, pudiéndose deprimir aún mas el pH.

El pH disminuye en todas las regiones de la boca y llega a un mínimo, que es mas bajo en aquellas regiones que presentan un pH inicial más bajo; estos niveles de acidez son peligrosos ya que, a un pH aproximado de 4.5 la saturación de minerales es superada y la solubilidad del esmalte aumenta. Así mismo Stephan observó que la caída del pH era más pronunciada en individuos con caries activa y diferente entre individuos sin caries y con caries inactiva.^{58,59}

Ahora bien, estudios detallados de sujetos antes y después de haber comido, han demostrado que las placas bacterianas situadas en diferentes regiones (espacios interproximales, superficies adyacentes a la encía) de los dientes presentan curvas de pH similares, salvo que las curvas se extienden por un período mayor.⁶⁰

El pH de la PDB es mas elevado antes de la comida y casi invariablemente es mas alto que el de la saliva que baña la PDB continuamente. En este momento, la producción de base de la placa supera la producción de ácido y es mayor en las placas sobre los dientes anteriores inferiores y menor en las placas de los dientes superiores. Las PDB's en las regiones de acceso fácil para la saliva presentan niveles mas altos de pH y la mayor diferencia con el pH salival.⁶¹

También se ha descrito que la producción ácida es mediada por la cantidad de flujo salival, capacidad amortiguadora de la misma, grosor de la placa y concentración de flúor en la interfase diente - placa.^{11, 62-63}

Con todos estos elementos es obvio que el énfasis de las investigaciones sobre caries ha ido concentrándose sobre el grupo *mutans*, que en la actualidad es considerado como el agente etiológico primario de esta enfermedad. Sólo faltan por esbozar las siguientes razones:

- El grupo *mutans* coloniza con niveles elevados los dientes de una manera localizada, sólo algunos dientes y superficies dentales pueden estar infectados. En general esta colonización coincide con el patrón de desarrollo de la caries,⁶⁴⁻⁶⁵
- las personas que tienen muchas lesiones, tienen más superficies dentales infectadas por el grupo *mutans* que aquellas que tienen pocas lesiones,⁶⁶⁻⁶⁷
- existe una correlación positiva, estadísticamente significativa entre la duración de la infección bucal por el grupo *mutans* y la incidencia de caries,⁶⁸ y
- las evidencias sugieren que la infección de las superficies dentales con el grupo *mutans* precede el desarrollo de la lesión.⁶⁹⁻⁷¹

Utilización de medios de cultivo para la enumeración del grupo mutans en investigación.

A partir de los elementos recién expuestos, en general se presenta un número de problemas técnicos para obtener muestras representativas de diferentes sitios de las superficies dentarias (espacios interproximales, superficies oclusales y lisas) con el fin de obtener una aproximación al conteo global de colonización, así como para la diseminación, cultivo y enumeración de los microorganismos. Un método simple para el examen de una compleja y variable flora de las superficies dentales, tendría que satisfacer estas condiciones mínimas necesarias.

Sin embargo, un gran número de las especies *streptococcicas* puede ser aislado de varios sitios de la boca y cultivadas en medios aeróbicos selectivos sobre la base de las características y propiedades de cada microorganismo. El interés por asociar al grupo *mutans* con la caries ha dado como resultado una metodología amplia y variada para el aislamiento, cuantificación e identificación de las especies, estas pruebas se describen y desglosan con detalle en el anexo 1.

El conteo microbiano ha demostrado tener una certeza diagnóstica del 83% y un valor predictivo negativo del 93% lo que permite tener una buena opción para dejar fuera a los individuos con un bajo riesgo a desarrollar nuevas lesiones cariosas; el valor predictivo positivo se ha determinado sólo en 22%, tal vez por que es usado en forma única como predictor, en una enfermedad multifactorial o tal vez porque también se cuentan colonias de otros estreptococos (*S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. bucalis*).²⁶

Tal vez debido a esta circunstancia se ha referido que muchas de estas pruebas garantizan su sensibilidad, especificidad y falsedad.⁷⁰ En este sentido se han analizado los criterios diagnósticos para predecir la futura actividad de caries, dentro de ellos, los criterios bacteriológicos que se han usado y como han sido considerados como no completamente satisfactorios (tal vez debido a la selectividad de los medios de cultivo, problemas de diseminación y de enumeración), haciendo hincapié en que un gran número de reportes científicos indican que no son prácticos para identificar riesgos individuales.⁷¹⁻⁷⁷

Desde 1972⁷⁸ y posteriormente en 1992⁷⁹ se ha sugerido que las pruebas bacteriológicas tienen errores técnicos al confundir el crecimiento bacteriano (con un mínimo del 10%), considerando que el porcentaje aumenta dependiendo tanto de la

técnica que se emplea, como, de la capacitación del investigador que realiza la enumeración.

El valor del criterio de selección sigue actualmente en duda, ya que los recuentos microbianos, ante la amplia gama de técnicas y medios diagnósticos da como resultado ocasionalmente en supra o subregistros.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El diagnóstico y prevención de la caries, debería estar apoyado en pruebas que revelen la presencia o ausencia de factores etiológicos, que se supone determinan el riesgo a enfermar.

Si bien, se han planteado un número importante de técnicas y medios, en la actualidad se han generado tanto técnicas como medios para enumeración microbiológica de uso en el consultorio, utilizándose como aproximación al total de microorganismos bucales de la placa, las muestras salivales.

Sin embargo, estudios preliminares realizados por una servidora, indican que los niños independientemente de su condición dental,* cuando se analizó la asociación entre los conteos microbiológicos y la incidencia de caries, se obtuvo un riesgo relativo a un año no significativo de 0.878 y un riesgo atribuible del 0.01.

Esta falta de asociación hace pensar que el fenómeno es más complejo en su causalidad y que los medios diagnósticos utilizados anteriormente pueden estar sub o supra registrando la cantidad real de microorganismos presentes en la cavidad bucal, puesto que se encontró: a) niños libres de caries con altos recuentos del grupo *mutans* y *L. acidophilus* y que no desarrollaron caries; b) niños libres de caries con bajos recuentos de ambos microorganismos y que desarrollaron caries, así mismo c) niños con caries y bajos conteos de microorganismos que desarrollaron nuevas lesiones cariosas y d) niños con altos conteos microbiológicos que no tuvieron incidencia de caries; situación que hace surja la siguiente pregunta:

¿ El recuento de microorganismos varía dependiendo del tipo de muestra empleada para inoculación, del medio de cultivo utilizado, influido por la condición bucal y existe un binomio medio/inóculo que permite predecir con mayor certeza la incidencia del proceso carioso?

*Condición bucal: niños libres de caries, con dientes sanos y cariados, con dientes sanos y obturados, con dientes sanos, obturados y cariados, con dientes sanos, cariados y perdidos, y con dientes sanos, cariados, perdidos y obturados.

6. OBJETIVOS GENERALES

1. Comparar cual medio de cultivo y cual técnica de muestreo puede explicar mejor las variaciones en el conteo de microorganismos del grupo *mutans* y la asociación de estos con la caries.
2. Definir la capacidad diagnóstica del conteo bacteriológico del grupo *mutans* y del *L. acidophilus* y su asociación con la prevalencia e incidencia de caries en niños con caries activa e inactiva.
3. Evaluar dos medios de cultivo (2 tipos de inóculo) para el grupo *mutans* y dos medios de cultivo (2 tipos de inóculo) para el *L. acidophilus*, correlacionando los hallazgos con la incidencia de caries en los escolares estudiados.
4. Evaluar dos medios de cultivo en caldo para el grupo *mutans* y correlacionar los hallazgos con la incidencia de caries.

6.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el estado de salud dental en los escolares a través del número de dientes sanos, cariados, perdidos y obturados en la dentición temporal y permanente, utilizando los índices ceo-d, s (dentición temporal) y CPO-D, S (dentición permanente) en los grupos de estudio.
2. Comparar el crecimiento bacteriano del grupo *mutans*, en saliva y PDB sobre dos medios de cultivo.
3. Cuantificar las UFC del grupo *mutans* en saliva y en PDB a través de su crecimiento en dos medios selectivos, MSB,⁸⁰ TSY20B,⁸¹ en los escolares libres de caries y con experiencia de la enfermedad.

4. Comparar el crecimiento bacteriano en dos caldos selectivos de cultivo: caldo MSB⁸² y caldo de soya tripticaseína⁸³ en escolares libres de caries y con diferente experiencia de la enfermedad.
5. Correlacionar los conteos microbianos de los dos medios y los dos inóculos entre los escolares.
6. Analizar la asociación entre las técnicas y el tipo de inóculo (saliva y PDB) con la incidencia de caries.
7. Determinar la actividad cariogénica de *L. acidophilus* a través de la técnica de Snyder y Rogosa SL,⁸⁴ ésta última en saliva y en PDB en los niños libres de caries y con diferente experiencia de caries.
8. Analizar los diferentes conteos microbianos de las dos técnicas y los dos métodos entre los grupos de estudio.
9. Determinar la especie del grupo mutans a la que corresponden las bacterias aisladas de cada niño a través de diversas pruebas bioquímicas.
10. Determinar la incidencia de caries dental en tres grupos con diferente riesgo.
11. Determinar cual de los medios bacteriológicos tiene mayor asociación con la incidencia de caries dental.

7. HIPÓTESIS

- Los conteos microbianos del grupo *mutans* son diferentes dependiendo del medio de cultivo utilizado.
- Los conteos microbianos del *L. acidophilus* son diferentes dependiendo del medio de cultivo utilizado.
- Los conteos microbianos del grupo *mutans* varían dependiendo del tipo de inóculo utilizado para su cultivo.
- Los conteos microbianos del *L. acidophilus* dependen de la técnica utilizada para su cultivo.
- Existe un medio y una técnica óptimos para enumerar cada microorganismo y estos correlacionan con la incidencia de caries.
- A mayor actividad microbiana se tendrá una mayor incidencia de caries, existiendo un medio de cultivo y un inóculo que permite identificar con mayor certeza el riesgo de los niños a desarrollar nuevos episodios de la enfermedad.
- Existen grupos de marcadores que permiten tener una mejor certeza diagnóstica, para predecir el riesgo a caries.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE INVESTIGACIÓN

Estudio de tres cohortes

a. POBLACIÓN SUJETA A ESTUDIO

Se estudió a través de un muestreo aleatorio a 60 niños de ambos sexos, entre 8 y 10 años de edad, asistentes a las escuelas públicas federales de la zona sur del D.F. de la delegación de Tlahuac. Que se eligieron con relación a su estado de salud bucal (muestreo probabilístico proporcional). Se examinó a la población escolar hasta encontrar niños con dentición mixta, niños libres de caries en ambas denticiones temporal y permanente, niños con diverso número de dientes afectados por la enfermedad (dientes cariados, perdidos y obturados por caries en cualquiera de las denticiones temporal y permanente). De los cuales se eligió a los integrantes de las 3 cohortes. Estos niños se valoraron al inicio del estudio y a los 18 meses posteriores a la fecha de la primera revisión.

Criterios de Inclusión:

Para las tres cohortes:

1. Tener entre 8 y 10 años de edad cumplidos a la fecha del examen.
2. Tener erupcionados los primeros molares permanentes.
3. No estar en tratamiento médico a la fecha del examen microbiológico.
4. Consentimiento informado de los padres para que su hijo participara en la investigación.

Para la cohorte de niños sanos (bajo riesgo):

1. Estar libre de caries en ambas denticiones al inicio del estudio para integrarse a esta cohorte.

Para las cohortes de caries leve y alta (mediano y alto riesgo):

1. Presentar caries dental circunscrita a fisuras y fosetas en la dentición permanente.
2. Tener entre 1 y 3 dientes cariados, perdidos u obturados en cualquiera de las denticiones (corte de mediano riesgo).
3. Tener más de 4 dientes cariados, perdidos u obturados en cualquiera de las denticiones (Cohorte de alto riesgo)

Criterios de exclusión:

1. Que los padres o el niño no deseen seguir participando en la investigación.
2. Iniciar tratamiento médico antimicrobiano.

Criterios de eliminación:

1. Cambio de domicilio o escuela.
2. Que el niño desarrolle caries rampante.
3. Que el niño presente xerostomía.

b. MARCO DE MUESTREO, TIPO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

MARCO MUESTRAL

Escuelas primarias públicas federales de la zona sur del D.F. de la Delegación Tlahuac. Se muestreo al 3% de las escuelas de la zona a través de un muestreo al azar, las escuelas seleccionadas fueron:

1. Escuela Narciso Ramos
2. Escuela Antonio Caso
3. Escuela Otilio Montaña

TIPO DE MUESTREO

Probabilístico proporcional.

MÉTODO DE MUESTREO:

Aleatorio simple, de conveniencia

ULTIMA UNIDAD DE MUESTREO

Niños con dentición mixta entre 8 a 10 años que donaron muestras de saliva y PDB.

TAMAÑO DE LA MUESTRA:

60 niños: 20 niños libres de caries (caries inactivos), y 40 niños caries activos: 20 con un índice de caries leve (entre 1 y 3 dientes ceo+CPO) y 20 con un índice de caries entre moderado y alto, más de 4 dientes ceo+CPO (caries activa).

CONSIDERACIONES ETICAS

Con lo que respecta a los aspectos éticos de la investigación en seres humanos y de acuerdo a los principios de Helsinki vertidos en el reglamento de la Ley General de Salud, se contó con el consentimiento informado de los padres de los sujetos a investigar. Para seleccionarlos se utilizaron los criterios descritos, tomándose las medidas pertinentes para evitar cualquier riesgo a los sujetos que se examinó, considerando que esta investigación se encuentra en dos esquemas, el primero estipulado en el Título Segundo, Capítulo I, artículo 17, inciso I: investigación sin riesgo, ya que solo se observó el proceso carioso de cada individuo y los datos observados se recolectaron en una forma previamente elaborada. El segundo corresponde al inciso II: Investigación con riesgo mínimo, que corresponde a la recolección salival y de PDB. Y se acogió al artículo 20 del mismo capítulo..... "se podrá autorizar que el consentimiento informado se obtenga sin formulación por escrito "... (SIC) (Anexo 2).

c. VARIABLES, DEFINICIONES OPERATIVAS Y ESCALAS DE MEDICION.

Edad: Se registró en años cumplidos a la fecha de la recolección de la información. Variable cuantitativa discreta. Escala de medición de intervalo. (V. independiente)

Sexo: Se registró según correspondía, masculino y femenino. Variable cualitativa ordinal. Escala de medición ordinal. (V. independiente)

Experiencia de caries: Se determinó la historia natural de la caries dental mediante la utilización del índice ceo-d para dientes temporales y CPO-D para dientes permanentes según criterios de la O.M.S.⁸⁵, utilizando como escala de medida el diente y la superficie (Anexo 3).

Los criterios de clasificación fueron niños libres de caries o cohorte de caries inactiva: aquellos que no presentaron evidencias de haber padecido la enfermedad en ambas denticiones, con una expresión leve de la enfermedad CPO+ceo entre 1 y 3 dientes afectados (caries activa) y niños con una experiencia moderada de CPO+ceo = mayor de 4 dientes afectados, o caries activa. (Este criterio de clasificación ha sido tomado de los criterios de la O.M.S.⁸⁶). Variable cuantitativa discreta. Escala de medición de intervalo. (V. dependiente)

Medios de cultivo para *S. mutans*: las siembras de los inoculos se realizaron en los medios de cultivo selectivos para este grupo que se reportan en la literatura como los más utilizados MSB (agar de mitis salivarius con bacitracina) y el TSY20B (agar de soya tripticaseina con bacitracina suplementado). Variable categórica dicotómica. Escala de medición nominal. (V. independiente)

Conteo microbiano del grupo *mutans*: se cuantificó la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) del microorganismo por 100 μ de saliva diluida, así como de PDB en los medios MSB, TSY20B, realizando un conteo de UFC por ml de saliva y ml de disolución de placa dentobacteriana, (Anexos 4 y 5). Variable cuantitativa continua. Escala de medición de razón. (V. independiente)

Grado de infección por el grupo *mutans*: Se registró la aproximación al conteo del microorganismos por 1ml de saliva mediante el inculo de saliva en caldo MSB y caldo de soya tripticaseina registrando muy alto, alto, moderado y bajo grado de infección, valores que con fines estadísticos fueron clasificados de una escala ordinal (Anexo 6). (V. independiente)

Medios de cultivo para *Lactobacillus*: las siembras de los microorganismos se realizaron en los medios de cultivo selectivos que se reportan en la literatura como los

más utilizados Rogosa LB⁸⁴ y el agar de Snyder.⁸⁷ Variable categórica dicotómica. Escala de medición nominal. (V. independiente)

Conteo microbiano de *L. acidophilus*: se cuantificó la cantidad de UFC del microorganismo por 100 μ de saliva diluida, en el medio Rogosa SL,⁸⁴ realizando un conteo de UFC por ml de saliva. Variable cuantitativa continua. Escala de medición de razón. (V. independiente)

Actividad cariogénica: Se registró mediante la técnica de Snyder⁸⁷ inoculando con saliva 2ml el medio, registrando la actividad como: negativa, ligera, moderada y marcada. Variable ordinal. Escala de medición ordinal. (V. independiente)

Identificación bioquímica del grupo *mutans*: Se identificó a través de 13 diferentes pruebas, el microorganismo específico aislado de fisuras y fosetas. Variable cualitativa. Escala de medición categórica. (V. independiente)

Incidencia: Se registró a través de re-examinación de la población estudiada, el número de dientes que presenten nuevas lesiones cariosas, 18 meses posteriores al recuento microbiano. Variable cuantitativa discreta. Escala de medición de intervalo. (V. dependiente)

Técnica de recolección: Se registró mediante la obtención de saliva estimulada (Sa) y de la recolección de placa dentobacteriana (PDB). Variable nominal. Escala de medición nominal. (V. dependiente)

d. CAPTACIÓN DE LA INFORMACIÓN Y PROCEDIMIENTOS

Se solicitó el permiso de las autoridades correspondientes para revisar a los niños de las escuelas elegidas, solicitándose paralelamente el consentimiento informado verbal de los padres para que los niños pudieran participar en el presente proyecto de investigación.

Examen de la salud bucal. El diagnóstico de caries dental utilizado (índice ceo-d,s y CPO-D,S) se basó en los criterios de la O.M.S.⁸⁵, y se realizó en un salón de clases con luz normal por 1 Cirujano Dentista calibrado para tal efecto, con una reproducibilidad del 96% en la calibración intra y extra examinador.

Esta técnica determina individualmente la experiencia de caries dental y permite considerar la historia natural de la enfermedad. El índice de caries describe cuantitativamente el ataque del proceso carioso, el índice ceo-d es utilizado para la dentición temporal: el símbolo (c) significa diente temporal cariado; el símbolo (e) representa un diente temporal indicado para extracción por caries y el símbolo (o) representa el número de dientes temporales obturados.

El índice CPO describe el ataque del proceso carioso en la dentición permanente: el símbolo (C) está representado por los dientes cariados o con reincidencia de caries dental, pero susceptible de tratamiento; el símbolo (P) está conformado por el indicador de dientes perdidos por caries dental y el símbolo (O) representa a los dientes que tuvieron caries pero que se encuentran obturados con algún tipo de material restaurativo definitivo sin evidencias de reincidencia de caries dental.

Este índice utiliza como unidad de medida el diente, los índices ceo-s y CPO-S utilizan los mismos criterios y códigos, utilizando como unidad de medida la superficie dentaria; cada diente posterior esta constituido por 5 superficies dentarias (m,d,b,l,o) y los dientes anteriores cuatro (m,d,b,l).

18 meses después del primer examen, se repitió el mismo, con la finalidad de registrar nuevamente el estado de salud bucal de cada individuo. Este examen se realizó sin que el investigador tuviera acceso a los expedientes previos, con el fin de evitar sesgos.

Cuantificación de las concentraciones del grupo *mutans*. Se montaron las técnicas correspondientes, las cuales fueron probadas con cepas tipo ATCC (*S. mutans* cepa número 25175, *S. sobrinus* cepa número 33478, *L. acidophilus* cepa número 4356), donde se hicieron las recuperaciones e identificaciones de las bacterias determinando la validez en la preparación de los medios de cultivo y en la identificación del microorganismo.

Las concentraciones de *S. mutans* fueron determinadas de acuerdo a dos medios, y los dos tipos de inóculo: en medio de MSB de Gold, Jordan y van Houte;⁸⁰

medio TSY20B descrito por Shaeken, Vander Hoeven y Franken.⁸¹ Los tipos de inóculo fueron una muestra de saliva total estimulada y una muestra de PDB. Correspondiente a las fisuras y fosetas del 1^{er} molar inferior derecho.

Resumen del muestreo bacteriológico.- Antes de recolectar la PDB de los niños se enjuagaban la boca con agua para remover los residuos alimenticios. Se obtuvo una muestra de placa de fisuras y fosetas oclusales de los primeros molares inferiores con una aguja estéril calibre 26 corta (Becton Dickinson), la aguja se tomaba con unas pinzas hemostáticas y se quitaba la cubierta plástica, raspándose con una presión firme y moderada la fosa central seis veces en dirección disto-mesial.^{49,88-90} La aguja era colocada en 3 ml del medio de transporte VGMIII⁹¹ que contiene pequeñas perlas de vidrio para facilitar su posterior dispersión, las muestras eran inmediatamente colocadas en hielo a 4°C y transportadas al laboratorio.

Una muestra salival por sujeto se obtuvo a la misma hora cada día, aproximadamente 120 minutos después de los alimentos,⁹² ninguno de los niños que donaron saliva se encontraba con terapia antibiótica, cuando menos 6 semanas antes del muestreo.

Se obtuvo saliva estimulada total por masticación de una pastilla de cera con parafina de aproximadamente 2.5 g por 3 minutos.

La saliva se escupía en un tubo de ensayo estéril. Las muestras se almacenaban en hielo para ser transportadas al laboratorio. Las muestras eran procesadas antes de haber pasado 2 horas de su obtención.

Resumen del estudio bacteriológico.- Cada muestra de saliva era dispersada en vortex (Genie 2 mixer Scientific Industries Inc. Springfield Mass) durante 30 sec. Para obtener las diluciones en forma seriada de las muestras de saliva estimulada se transfirieron 0.4ml de la suspensión en 3.6 ml de una solución buffer isotónica de cloruro de sodio estéril (0.5% NaCl), agitándose cada dilución 30 sec. en el vortex haciendo diluciones seriadas (10^1 - 10^3). Alicuotas de 100 μ de la dilución más alta era vertida en la caja petri y dispersadas con un rodillo de cristal estéril en los siguientes medios de cultivo:

Mitis Salivarius Agar (MS-agar Difco Labs. Detroit Mich) suplementado con 15% de sacarosa y 1 ml de cada una de las siguientes soluciones estériles: telurito de Potasio al 1% (Difco) y 0.2 units/ml de bacitracina. Agar de soya tripticaseina (Difco Labs. Detroit Mich), suplementado con 10% de extracto de levadura, 5% de Bacto agar

y 20% de sacarosa y posteriormente 0.2 units/ml de bacitracina, con el fin de suprimir el crecimiento del *Streptococcus salivarius*. Estos medios fueron preparados de acuerdo a las instrucciones tanto del fabricante como con las instrucciones y recomendaciones de los autores.

Las muestras de PDB eran homogeneizadas en un vortex por 30 sec. y se inoculaban los medios con 100 μ del medio de transporte sin diluir, el inóculo era dispersado en cada caja petri con un rodillo de cristal estéril por duplicado.

Todas las cajas fueron incubadas a 37°C en jarras con candela por 72 horas. Después de la incubación las cajas se mantenían a temperatura ambiente por 24 horas antes de realizar las lecturas.

La enumeración del grupo *mutans* se basó en la morfología de las colonias y en la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC). La identificación se realizó a través de pruebas bioquímicas, para su procesamiento las muestras fueron tomadas de las cajas petri de TSY20B. Todos las cajas fueron sembrados y contados por el mismo investigador, para evitar cualquier sesgo.

Las condiciones sobre la técnica de agar mitis salivarius con bacitracina y agar de soya tripticaseina con bacitracina, la preparación de los medios de cultivo y el procedimiento de lectura se describen en el Anexo 4 y 5.

Determinación del nivel de infección del grupo *mutans*. Caldo de mitis salivarius con bacitracina y caldo de soya tripticaseina con bacitracina. De las muestras salivales individuales obtenidas con estímulo para esta técnica:

Resumen del estudio bacteriológico: De la saliva de los niños que se recolectada, se agitaba en vortex por 30 segundos. Se tomaron 100 μ de saliva estimulada, con la pipeta automática de puntas intercambiables, depositándola en el tubo de ensaye que contenía el medio de cultivo. Los tubos una vez inoculados se agitan ligeramente 20 segundos en vortex y se colocan en una gradilla que debía mantenerse inclinada entre 30 y 60 grados, para facilitar la adhesión de los microorganismos a las paredes del tubo.

Una vez llena la gradilla era llevada a incubación aeróbica a 37 grados centígrados en el laboratorio. A las 24 horas se leían los tubos de ensaye y se registraba la información en las hojas de encuesta.

Las condiciones sobre la técnica de caldo de mitis salivarius con bacitracina y caldo soya tripticaseina con bacitracina, la preparación de los medios de cultivo y el procedimiento de lectura se describen en el Anexo 6 y 7.

Cuantificación de las concentraciones de *L. acidophilus*. En una sesión subsecuente se realizaban los mismos procedimientos de recolección de muestras descritas para la determinación del grupo mutans.

Resumen del estudio bacteriológico. Cada muestra de saliva era dispersada en vortex (Genie 2 mixer Scientific Industries Inc. Springfield Mass) durante 30 sec. Para obtener las diluciones en forma seriada de las muestras de saliva estimulada se transfirieron 0.4 ml de la suspensión en 3.6 ml de una solución buffer isotónica de cloruro de sodio estéril (0.5% NaCl), agitándose cada dilución 30 segundos en el vortex haciendo diluciones seriadas (10^1 - 10^3). Alicuotas de 100 μ de la dilución más alta era vertida en la caja petri y dispersadas con un rodillo de cristal estéril en el siguiente medio de cultivo:

Agar Rogosa SL (Rogosa SL agar Difco Labs. Detroit Mich) suplementado con ácido glacial acético. Este medio fue preparado de acuerdo a las instrucciones tanto del fabricante como con las instrucciones y recomendaciones de los autores.

Las muestras de PDB eran homogeneizadas en un vortex por 30 sec. y se inoculaban los medios con 100 μ del medio de transporte sin diluir, él inoculo era dispersado en cada caja con un rodillo de cristal estéril por duplicado.

Todos las cajas petri fueron incubados a 35°C por 72 horas, (en posición invertida para la incubación) en una atmósfera aeróbica. Después de la incubación las cajas se mantenían a temperatura ambiente por 24 horas antes de realizar las lecturas.

La enumeración de *L. acidophilus* se baso en la morfología de las colonias y en la cantidad de UFC. Todos las cajas fueron sembrados y contados por el mismo investigador, para evitar cualquier sesgo. Las condiciones sobre la preparación del medio y la técnica de cultivo se describe en el anexo 8.

Determinación de la actividad cariogénica con la prueba de Snyder.- Una muestra salival por sujeto se obtuvo a la misma hora cada día, aproximadamente 120 minutos después de los alimentos, según técnica propuesta en 1994,⁹² ninguno de los niños

que donaron saliva se encontraba con terapia antibiótica, cuando menos 6 semanas antes del muestreo.

Se obtuvo saliva estimulada total por masticación de una pastilla de cera con parafina de aproximadamente 2.5 g por 3 minutos.

La saliva se escupía en un tubo de ensaye estéril. Las muestras se almacenaban en hielo para ser transportadas al laboratorio. Las muestras eran procesadas antes de haber pasado 2 horas de su obtención.

Resumen del estudio bacteriológico.- Cada muestra de saliva era dispersada en vortex (Genie 2 mixer Scientific Industries Inc. Springfield Mass) durante 30 segundos. De las muestras de saliva estimulada se transfirieron 2 ml de ésta para inocular el medio de Snyder (Snyder agar, Difco Labs. Detroit Mich) que se debía de haber conservado a una temperatura de 45°C en baño María. Agitándose cada tubo una vez inoculado por 30 sec. en el vortex para homogeneizar la saliva con el medio. Se incubó a 37°C en una atmósfera aeróbica, por tres días. Cada 24 horas se observaba el medio para anotar los cambios de color, lo cual se facilita por transluminación contra el tubo control. El color cambia de azul-verdoso a amarillo. Las condiciones sobre la técnica de Snyder, la preparación del medio de cultivo y el procedimiento de lectura se describen en el Anexo 9.

Exposición al ion Flúor. Para determinar si los efectos protectores del ion flúor juegan un papel en la incidencia de caries en la población estudiada, los domicilios y las escuelas de los niños fueron ubicadas en un mapa y los niveles del ion flúor en agua potable fueron determinados por el departamento correspondiente de la Secretaria de Salud.

Pruebas de identificación bioquímica para el grupo *mutans*.- Los resultados de las pruebas bioquímicas para cada especie, son aplicables a la identificación de una especie en particular dentro de un género. Los siguientes esquemas de identificación para el grupo *mutans* fueron utilizados: Prueba de la esculina en medio de bilis, prueba de fermentación de los hidratos de carbono (lactosa, manitol, sorbitol, arabinosa, rafinosa, inulina y melibiosa), prueba de la catalasa, prueba de la decarboxilasa (arginina), prueba del rojo de metilo, reacción a la ureasa y reacción de Voges - Proskauer. Anexo 10.

d'. MÉTODO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Se utilizó el método de observación estructurada directa de las condiciones y características bucales con relación a la experiencia anterior de caries (índice ceo-d CPO-D), cuyos auxiliares mecánicos fueron espejos dentales y exploradores dobles. El sistema de categorías para codificar cada fenómeno observado se encuentra descrito en los anexos del 3 al 10. El registro de las observaciones se realizó en un instrumento elaborado para tal fin (Anexo 11).

e. MATERIAL Y EQUIPO EMPLEADO

Las necesarias y descritas en cada técnica, realizando un breve desglose:

Equipo:

- 1 Autoclave
- 1 Agitador magnético
- 1 Vortex
- 1 Esterilizador
- 2 Estufas bacteriológicas
- 1 Campana de flujo laminar
- 1 Refrigerador
- 2 Pipeta Ependorff 100ml y 1000 ml
- 2 Mecheros
- 1 Báscula

Material:

- 20 Exploradores dobles
- 20 Espejos dentales
- 10 Pinzas de curación
- 200 Tubos de ensaye
- 100 Tapas de tubos de ensaye
- 10 Tubos de ensaye milimétricos
- 300 Cajas de petri
- 3 Cajas de puntas de pipetas
- 3 Varillas de vidrio
- 5 Gradillas para tubos de ensaye
- 5 Gradillas para tubos de ensaye
- 2 Matracas de 1 litro
- 2 Matracas de 2 litros

Material consumible.

- 500 Patillas de parafina
- 1 Bolsa de Puntas para pipeta.
- 3 Recipientes para esterilizar
- 3 Paquetes de Algodón
- 2 Paquetes de toallas desechables
- 2 Galones de Gluta - Aldehido
- 3 Cajas de Cubrebocas
- 3 Cajas de guantes
- 3 Cajas de Vasos desechables
- 3 Paquetes de Gasas
- 2 Cajas de Abatelenguas
- 1 Caja de Bolsas para Basura
- Papelería necesaria
- 2 Cajas de Disquetes para Computadora

Medios de cultivo:

- 2 Frascos de MSB de 500 gr (DIFCO)
- 1 Caja de telurito de potasio (DIFCO)
- 1 Frasco de sacarosa (Sigma)
- 1 Frasco de bacitracina (Sigma)
- 2 Frascos de Agar soya tripticaseina (DIFCO)
- 1 Frasco Bacto - Agar (DIFCO)
- 1 Frasco Extracto de levadura (DIFCO)

Medios de cultivo para Lactobacilos:

- 1 Frasco de Rogosa LB (DIFCO)
- 1 Frasco Snyder Test (DIFCO)
- Acido glacial acético (Sigma)

Pruebas bioquímicas:

- 1 Frasco de Urea (DIFCO)
- 1 Frasco de bilis esculina (DIFCO)
- 1 Frasco de arginina (DIFCO)
- 1 Frasco de caldo rojo fenol (DIFCO)
- 1 Frasco de Raffinosa (DIFCO)
- 1 Frasco de inulina (DIFCO)
- 1 Frasco de Meliobiosa (DIFCO)
- 1 Frasco de lactosa (DIFCO)
- 1 Frasco de Manitol (DIFCO)
- 1 Frasco de Sorbitol (DIFCO)
- 1 Frasco de Sacarosa (SIGMA)
- 1 Frasco de RM-VP (DIFCO)

Caldo de cultivo MSB:

- 1 Frasco Triptosa (DIFCO)
- 1 Frasco Proteosa Peptona (DIFCO)
- 1 Frasco dextrosa (DIFCO)
- 1 Frasco Fosfato de potasio dibásico
- 1 Frasco Azul Tripan (Sigma)
- 1 Frasco Cristal violeta (Sigma)

f. MÉTODOS DE REGISTRO Y PROCESAMIENTO.

Los procedimientos se dividieron en seis etapas: en la primera etapa se conformaron las 3 cohortes.

Una vez identificados a los niños, en la segunda etapa se realizaron los exámenes clínicos para determinar la experiencia de caries de cada uno de los niños que conformaron la muestra.

En la tercera etapa se recolectó la saliva y la PDB para la siembra en los medios de cultivo selectivos del grupo *mutans* (MSB, TSYB20, caldo de mitis salivarius y caldo de soya tripticaseina), en diferentes momentos según queda explicitado en el cronograma.

La recolección y siembra de cada cultivo siempre fue realizada por el mismo individuo para evitar sesgos.

En la cuarta etapa fue recolectada la saliva y la PDB para la siembra en el medio de cultivo de *L. acidophilus*, y Snyder en diferentes momentos según se especifica.

En la quinta etapa se tomo de las muestras de PDB en el medio TSY20B las muestras correspondientes para realizar las pruebas bioquímicas.

Para la sexta etapa se esperó un año y medio para recolectar la información sobre incidencia de caries dental.

g. ANÁLISIS DE LOS DATOS Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Para determinar el análisis estadístico apropiado, se determinó que cada cohorte fuera independiente (análisis de varianza) $P < 0.05$ y que las muestras procedían de poblaciones de igual varianza para los índices ceo y CPO a través de la prueba de Bartley's $P > 0.05$.

Para analizar las diferencias entre los promedios de los índices de caries ceo, CPO y experiencia de caries (ceo+CPO) inicial y final, se utilizó la prueba *t* pareada.

La información de los exámenes clínicos (prevalencia e incidencia) ceo, CPO y Experiencia de caries (ceo+CPO) y el conteo de UFC de cada medio de cultivo se realizó a través del ANOVA.

Subsecuentes comparaciones se realizaron a través del análisis múltiple por rangos, aplicando la corrección de Bonferroni para determinar la homogeneidad o diferencia entre las medias de los grupos.

De las 60 cajas de cada muestra de saliva y de PDB en los medios MSB y TSY20B, el conteo de las UFC recuperadas para cada especie como dependiente se sometió a un MANOVA, para probar el impacto de tipo de muestra y de cultivo en el crecimiento bacteriano. Posteriormente se aplicó un modelo de regresión lineal simple para comprobar cuanto de la UFC de cada medio en saliva era explicado por el conteo de las UFC de placa.

Se determinó el coeficiente de correlación de Pearson para asociar las variables de caries y número de UFC.

Se calculó la validez de cada medio como prueba diagnóstica, registrando como resultado positivo cuando se observaba un crecimiento de $\geq 10^5$ *S. mutans*/ml de saliva contra incidencia de caries, se calcularon los riesgos relativos y atribuibles.

La significación estadística de la asociación entre la cualificación de las demás pruebas microbiológicas y el índice del ataque del proceso carioso (ceo, CPO) fue determinada mediante la prueba de correlación de Spearman, realizándose posteriormente la convergencia a la distribución normal a través de la prueba de Z para establecer la significancia estadística.

Se realizó un análisis de correlación múltiple para analizar cual de los medios tenía una mayor asociación con la prevalencia e incidencia de caries.

Se compararon los conteos de microorganismos en diferentes medios de cultivo utilizando la prueba de *t* de Student.

Mediante un análisis de conglomerados con las variables dependientes o de salida: experiencia cariogénica final, incidencia de la enfermedad y superficies finales afectadas, se conformaron 3 grupos que tenían una respuesta global homogénea; con el fin de analizar estos indicadores contra las variables independientes. Esos grupos se caracterizaron en términos de sus promedios de conteos microbianos mediante análisis multivariado (MANOVA).

Con la finalidad de generar un modelo, de acuerdo a las correlaciones significativas con las variables de riesgo identificadas como las de mayor peso, se generó un nuevo conglomerado con estas variables, permitiendo estructurar un modelo completo que permitiera identificar con mayor certeza la probabilidad de individuo a desarrollar la enfermedad. En este caso se calcularon las pruebas de validez diagnóstica, de acuerdo a diferentes puntos de corte.

Se utilizó el paquete estadístico JMP de la compañía SAS.

9. RESULTADOS

Los resultados que a continuación se presentan se agruparon para su mejor entendimiento en la siguiente secuencia:

1. Descripción general de la población estudiada.
2. Descripción de la población por cohorte con relación a:
 - a) Distribución del proceso de caries.
 - b) Distribución de las U.F.C. de *S. mutans* en medios de cultivo sólidos.
 - c) Distribución de las U.F.C. de *S. mutans* en caldos de cultivo.
 - d) Distribución de las U.F.C. de *Lactobacillus sp* en medios sólidos.
 - e) Actividad cariogénica medida a través de la velocidad de formación de ácidos, (prueba de Snyder).
 - f) Biotipificación de los estreptococos de PDB.
3. Conformación de conglomerados con las variables dependientes e independientes.
 - a) Tipologías de riesgo.
 - b) Tipologías de morbilidad.
4. Nuevas tipologías.
 - a) Tipologías de riesgo y morbilidad con selección de variables.

1. Descripción de la población. Se estudiaron 60 niños, 50% niños y 50% niñas. Diez niños tenían 8 años, 20 niños de 9 años de edad y 30 niños de 10 años. La distribución por edad y sexo de la población entre las cohortes fue homogénea $P=1.0$.

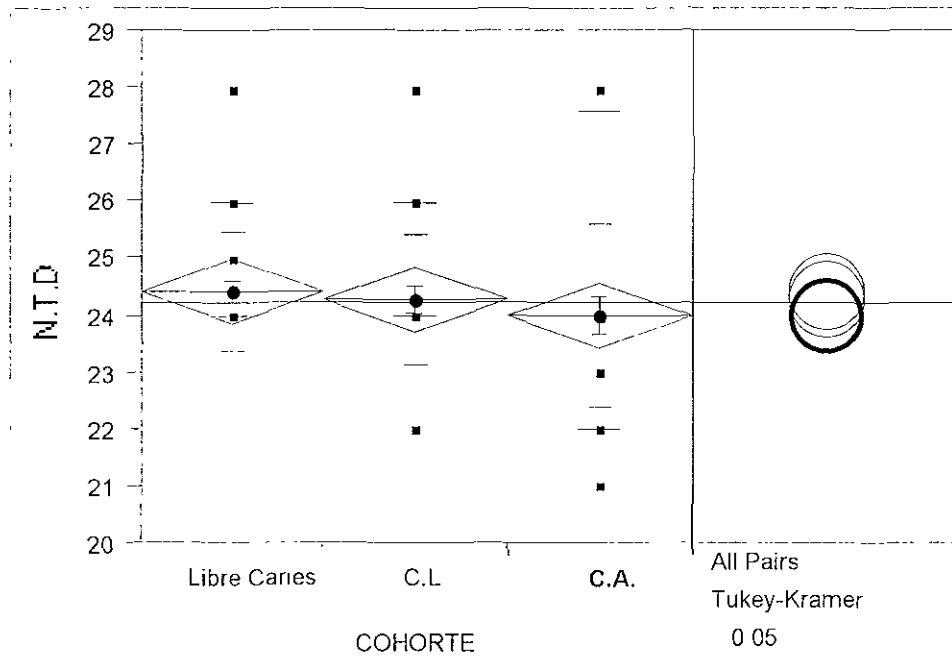
El promedio de dientes presentes fue de 24.3 ± 1.3 , sin diferencias estadísticamente significativas entre los promedios por edad ($P < 0.165$).

La distribución promedio de dientes permanentes en los niños, fue diferente con relación a la edad; a los 10 años se presentó una media mayor que en las otras dos edades, $P < 0.0001$. Esta información, así como la descripción del proceso de caries para ambas denticiones utilizando como unidad de medida el diente/superficie y la cantidad de UFC por edad, en los medios de cultivo seleccionados se describen en el apéndice 1.

2. Descripción de la población estudiada por cohortes. La distribución en promedio del número de dientes presentes entre las cohortes fue homogénea, no habiéndose observado diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada cohorte $P < 0.544$, (Gráfica 1). El promedio de dientes permanentes presentes fue de 13.3 ± 2.3 : la cohorte libre de caries o sanos (LC) presentó 13 ± 2.3 , la cohorte de caries leve (CL) tuvo 13.2 ± 2.7 y la cohorte de caries alta (CA) 13.8 ± 2.1 , no habiéndose establecido diferencias entre los promedios, $P < 0.507$ Gráfica 2.

Gráfica 1

ANALISIS DE VARIANZA CON PRUEBA DE TUKEY ENTRE EL NUMERO DE DIENTES PRESENTES EN LAS COHORTES

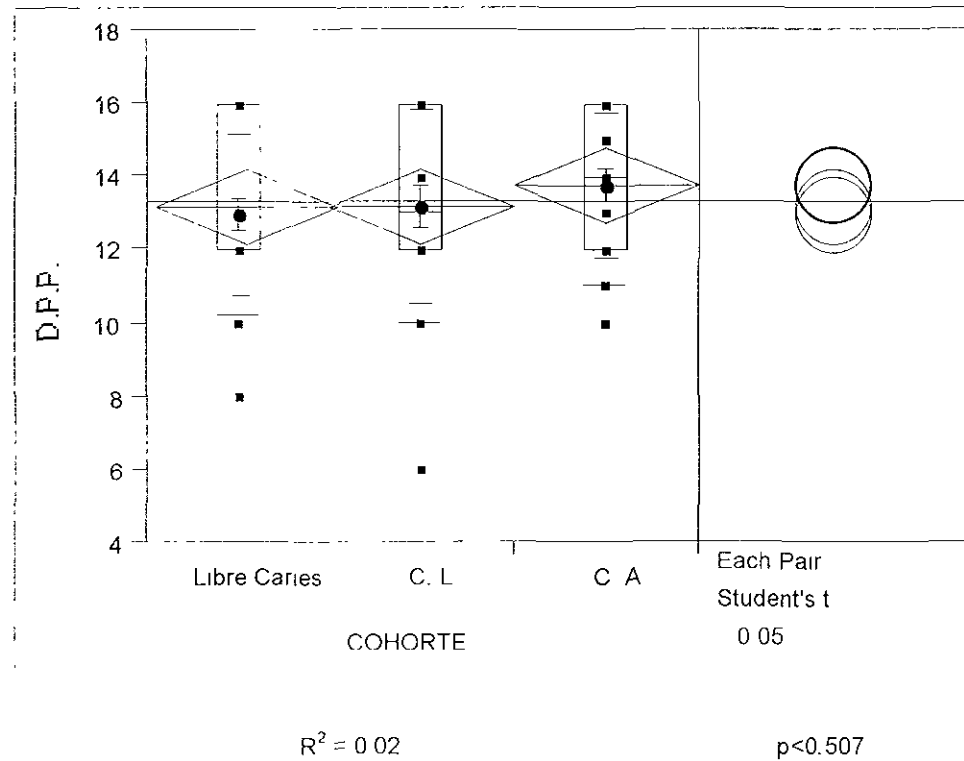


$R^2 = 0.02$

$p < 0.544$

Gráfica 2

ANALISIS DE VARIANZA SOBRE LA DISTRIBUCION DE LA DENTICION PERMANENTE PRESENTE (D.P.P.) EN LAS COHORTES ESTUDIDAS



2a. Como se describe en metodología, estos niños fueron seleccionados inicialmente sobre la base de su actividad de caries. Cada cohorte conformada por 20 niños. Todos los niños asignados a las cohortes con actividad de caries presentaban lesiones circunscritas a fisuras y fosetas. El promedio de actividad cariogénica fue: la cohorte LC, $ceod+CPOD=0+0=0$; la cohorte de CL presentó entre 1 y 3 dientes con lesión, sus índices fueron ($ceod+CPOD=1.5+1=2.4$, $ceos+CPOS=3.1+1.7=4.7$) y la cohorte CA presentó más de 4 dientes afectados por caries ($ceo-d+CPO-D=3.8+3.1=6.8$; $ceos+CPOS=7.3+5.4=12.6$). Como era de esperarse existieron diferencias muy significativas entre las cohortes cuando se realizó un análisis de varianza $P<0.0001$. Gráfica 3

La frecuencia de caries por diente y superficie (inicial y final), en cada cohorte se presenta en el cuadro 1. Para todas las variables (índices de caries) se aplicó una prueba de t apareada para comparar los índices iniciales y finales. En el curso de la investigación aparecieron 150 lesiones por caries en 87 dientes, un promedio de 2.5 lesiones por diente afectado.

El promedio de experiencia de caries ($ceo+CPO$) en los niños cuando se utiliza como unidad de medida el diente, al inicio fue de 3.1 (EE 0.40) y al final de 3.6 (EE 0.38) dientes en promedio, con una diferencia marginal $P<0.065$. el coeficiente de determinación indica que el 47% de las modificaciones del índice pueden deberse a la experiencia inicial de la enfermedad

Cuando la unidad de medida es la superficie, el promedio inicial fue de 5.8 (EE 0.86) y de 6.6 al finalizar el estudio (EE 0.55), al realizar un análisis de t apareada el valor del estadístico demostró que no existían diferencias significativas entre el valor inicial y final del índice, $P<0.1219$. se estimó un coeficiente de determinación más alto (67%) alcanzado cuando se utiliza como unidad de medida el diente. Enfermaron: 65% de los niños sanos. 50% de los

niños con caries leve y el 65% de los niños con alta actividad de caries, en total 36 niños (60%).

Al aplicar la prueba t para muestras pareadas, se establecieron diferencias significativas entre los promedios inicial y final en la cohorte LC en los índices CPO-D y S ($P=0.003$, $P=0.007$ respectivamente) y en la expresión global de la enfermedad por diente y superficie ($P=0.001$ $P=0.003$ respectivamente). En la cohorte de CL las diferencias fueron significativas con el ceo-d y s ($P=0.006$, $P=0.018$) y en el CPO-D y S ($P=0.011$, $P=0.006$). la experiencia global de caries no mostró esta tendencia, las diferencias obtenidas pueden deberse al azar, con una $P<0.065$. La cohorte de CA se comporto igual que la cohorte anterior (CL)

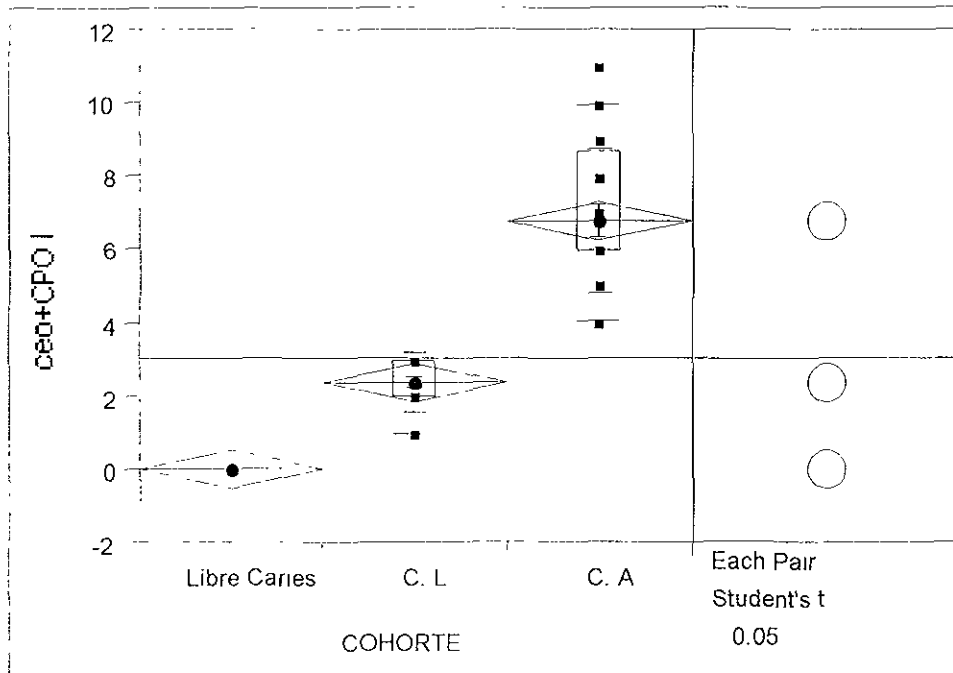
La distribución de los índices se observa en las gráficas 4 y 5. En éstas, la línea gruesa que se observa es la línea de regresión calculada, las líneas delgadas son los niveles de confianza calculados, si la información recolectada cae dentro de estas líneas, existen diferencias significativas, entre los promedios de los índices iniciales y finales. (En el caso de la cohorte de LC no se pudo ajustar la línea de regresión debido a que, estos niños partían todos de índices de caries iguales a 0 por lo cual no se presenta esta cohorte en las gráficas).

La distribución de los componentes del índice de caries inicial y final se describe en el cuadro - gráfica 6. En la cohorte LC se aprecia que en 18 meses aparece 1 diente cariado en promedio con una obturación por cada dos dientes afectados.

En la cohorte CL se aprecia que disminuye el número de dientes cariados debido a la pérdida de dientes temporales, presentando un promedio mayor de superficies obturadas vs superficies cariadas. La cohorte CA disminuye también la cantidad de dientes y superficies cariadas, sin embargo el promedio de superficies cariadas finales es mayor que el de superficies obturadas. Se estableció a través de la prueba t apareada diferencias estadísticamente significativas entre los promedios iniciales y finales de dientes cariados $P<0.0237$ y también de superficies cariadas $P<0.0025$.

Gráfica 3

ANALISIS DE VARIANZA ENTRE LA EXPERIENCIA INICIAL DE CARIES DENTAL (ceo+CPO I) EN LAS COHORTES



$R^2 = 0.84$

$p < 0.0000$

Cuadro 1. Distribución de índice de caries dental por diente y superficie de las cohortes estudiadas.

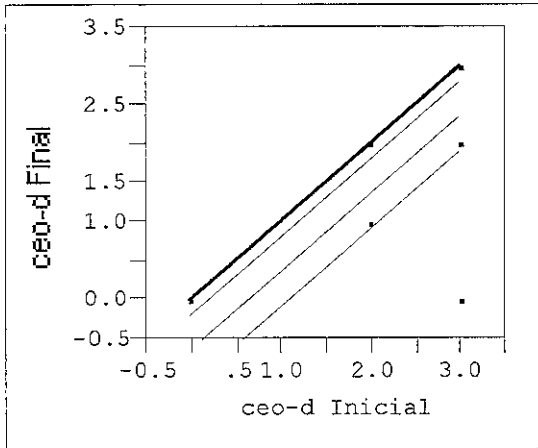
Proceso de Caries	Libre de Caries			Caries leve			Caries alta			Global		
	Inicial	Final	t	Inicial	Final	t	Inicial	Final	t	Inicial	Final	t
ceo-d	0	0.5	0.057	1.5	0.8	0.006	3.8	2.0	0.005	1.7	1.1	0.0050
CPO-D	0	1.2	0.003	1.0	1.9	0.011	3.1	4.5	0.004	1.3	2.5	0.0001
ceo-d+CPO-D	0	1.7	0.001	2.4	2.7	0.601	6.8	6.5	0.500	3.1	3.6	0.0650
ceo-s	0	0.9	0.062	3.1	1.5	0.018	7.3	5.0	0.052	3.4	2.5	0.0201
CPO-S	0	1.6	0.007	1.7	3.2	0.006	5.4	8.0	0.004	2.3	4.3	0.0000
ceo-s+CPO-S	0	2.5	0.003	4.7	4.7	0.952	12.6	12.7	0.821	5.8	6.6	0.1219
Incidencia D (Me, EE)		1.6 EE 0.4		1.0 EE 0.3			1.7 EE 0.4			1.4 EE 0.22		
Incidencia S (Me, EE)		2.2 EE 0.6		1.5 EE 0.5			3.6 EE 0.9			2.5 EE 0.4		
N° de Niños Sin Nuevas Caries		7		10			7			24		

* Valores de P en prueba de t apareada

Gráfica 4

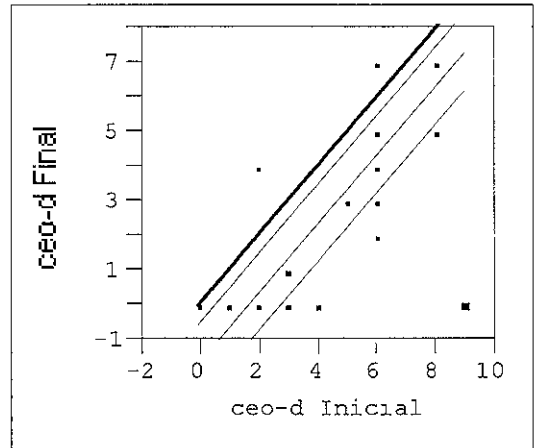
COMPARACIÓN CON "t" APAREADA DE LOS ÍNDICES INICIALES Y FINALES DE CRIES POR COHORTE, UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA EL DIENTE

Cohorte C.L.
ceo-d Final por ceo-d Inicial



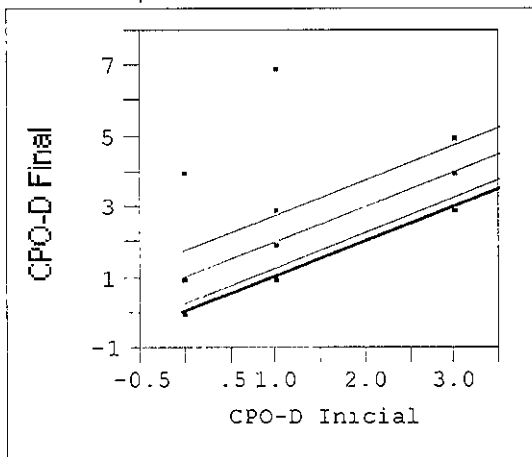
$R^2 = 55.3\%$ $P < 0.0057$

Cohorte C.A
ceo-d Final por ceo-d Inicial



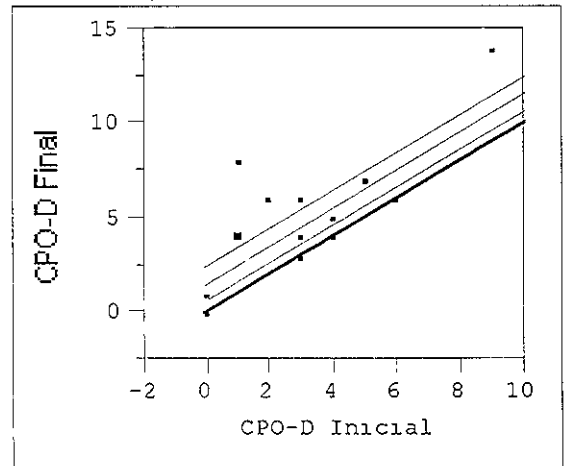
$R^2 = 42.5\%$ $P < 0.0046$

CPO-D Final por CPO-D Inicial



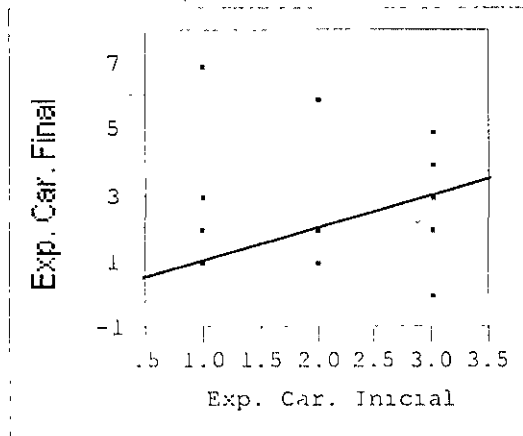
$R^2 = 46.9\%$ $P < 0.0111$

CPO-D Final por CPO-D Inicial



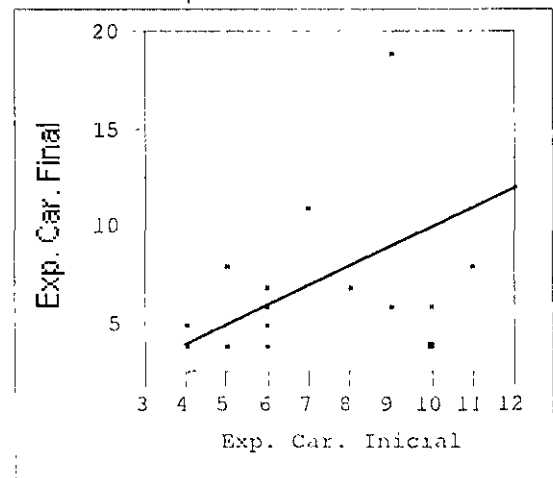
$R^2 = 64.2\%$ $P < 0.0041$

ceo-s+CPO-D F. por ceo-s+CPO-D In.



$R^2 = 2.0\%$ $P > 0.6005$

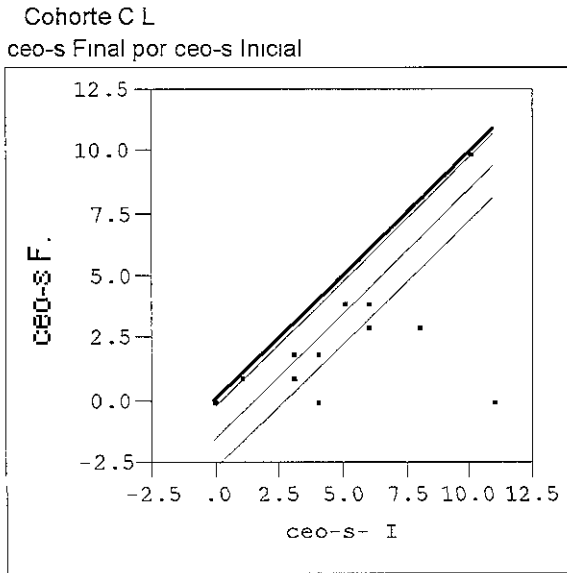
ceo-s+CPO-D F. por ceo-s+CPO-D In.



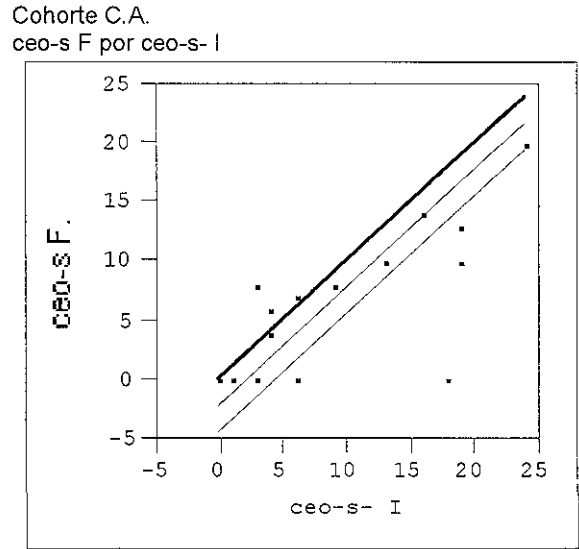
$R^2 = 46.9\%$ $P < 0.0650$

Gráfica 5

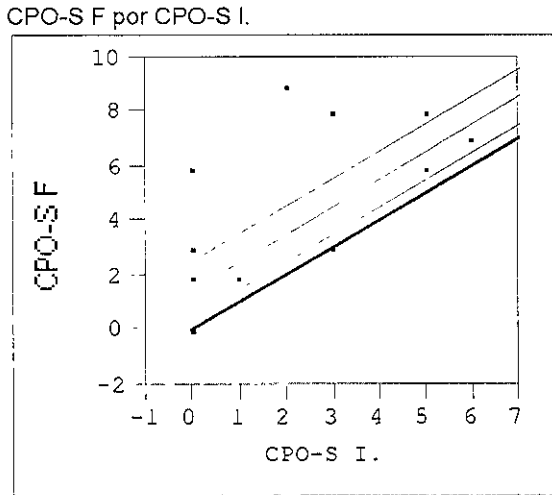
COMPARACIÓN DE “c” APAREADA EN LOS ÍNDICES INICIALES Y FINALES DE CARIES POR COHORTE, UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA LA SUPERFICIE



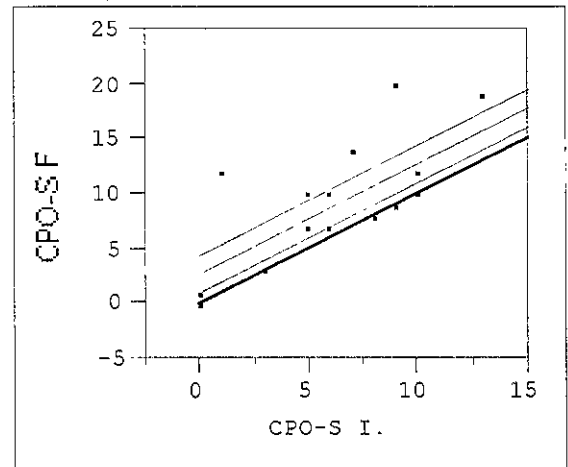
$R^2 = 44.6\%$ $P < 0.0183$



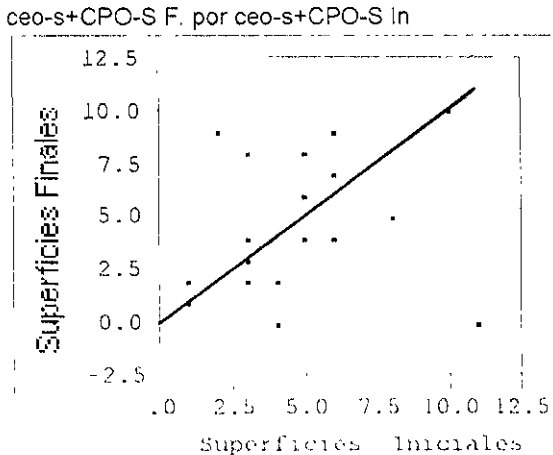
$R^2 = 63.0\%$ $P < 0.0516$



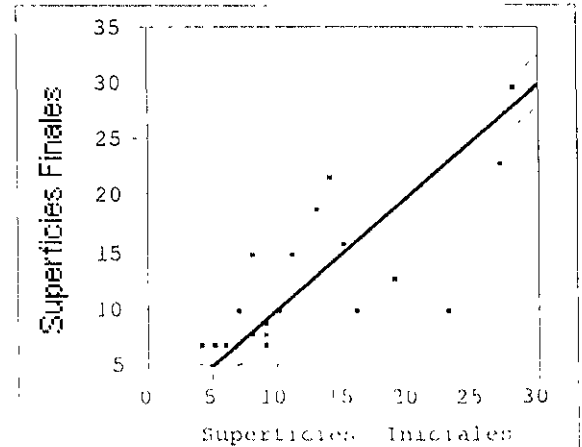
$R^2 = 55.8\%$ $P < 0.0064$



$R^2 = 64.8\%$ $P < 0.0036$



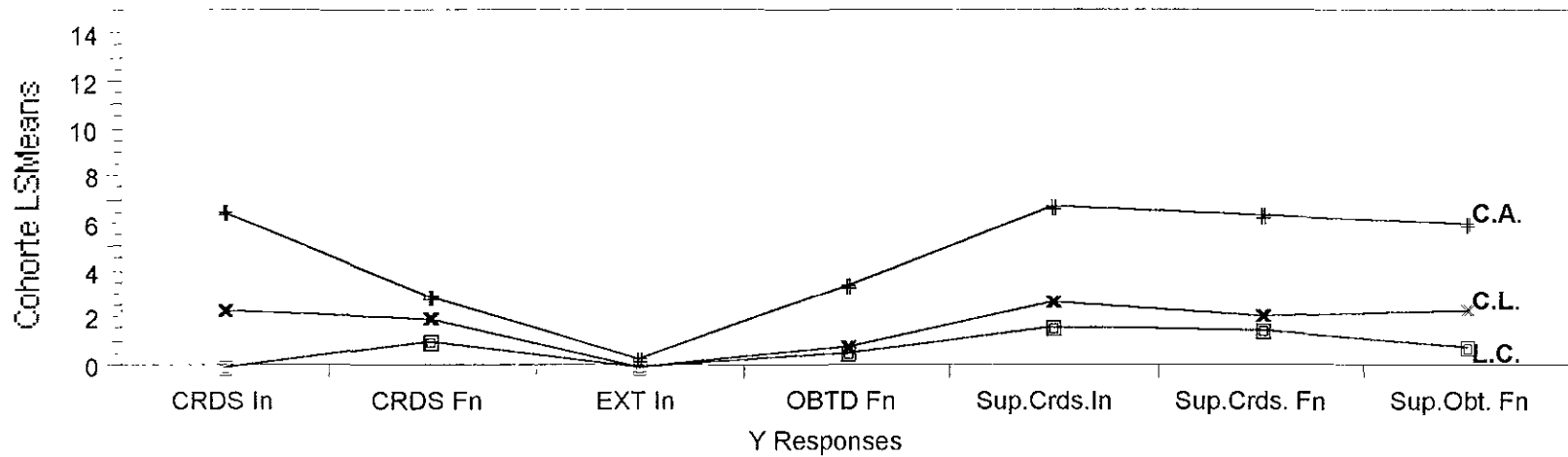
$R^2 = 4.1\%$ $P < 0.9518$



$R^2 = 54.0\%$ $P < 0.8215$

Gráfica 6

DISTRIBUCION DE LOS COMPONENTES DE LOS INDICES DE CARIES INICIALES Y FINALES EN LAS COHORTES



COMPONENTES

Cohorte	CRDS In	CRDS Fn	EXT In	OBTD Fn	Sup.Crds.In	Sup.Crds. Fn	Sup.Obt. Fn
S	0.0	1.1	0	0.6	1.6	1.5	0.8
C.L.	2.4	2	0	0.8	2.7	2.1	2.3
C.A.	6.5	2.9	0.25	3.4	6.8	6.5	6.1

2b. Distribución de *S. mutans* en medios sólidos. En el cuadro 2 se describe el promedio de UFC en los dos medios utilizados con los diferentes muestreos (saliva y placa dentobacteriana [PDB]) Cuando se utiliza como indicadora la saliva estimulada el conteo de UFC es mayor en TSY20B, la relación es de 3.6 UFC por una en MSB. Cuando se utiliza la PDB de fisuras y fosetas como indicador de la presencia del microorganismo la relación es similar de 1 a 1 entre los medios, aunque ligeramente inferior en el medio TSY20B, gráficas 7 y 8. Cuando se aplico la prueba t pareada se estableció que eran diferentes las medias con inóculo de saliva $P < 0.0000$ e iguales las medias con inóculos de placa $P < 0.7646$.

Cuando se calculó el coeficiente de determinación R^2 se estableció para saliva que el 20.2% de las variaciones en el conteo microbiano dependen del tipo de medio utilizado, mientras que para PDB se determinó que el 25% de las variaciones en el crecimiento de las UFC depende del medio utilizado.

Al establecer cuanto de las UFC dependía del inóculo utilizado se determinó que en el medio MSB sólo el 2% de las variaciones se podía atribuir al tipo de muestra utilizada, mientras que en TSY20B ésta dependencia fue del 23%. Gráficas 9 y 10.

Cuando se desglosa la información por actividad de caries en las cohortes estudiadas (cuadro 3) se puede apreciar que el comportamiento entre las cohortes es inestable. El número de UFC parece ser diferente entre las cohortes LC y CA y la cohorte de CL obtuvo los promedios de crecimiento bacteriano más bajos en tres de los cuatro binomios medio/inóculo utilizados, esta información sugiere que esta es la cohorte menos susceptible. Los dos medios inoculados con PDB mostraron diferencias significativas entre los promedios de las cohortes (MSB/PDB $P < 0.0183$, TSY20B/PDB $P < 0.0008$), en el binomio MSB/Sa se calculo una diferencia marginal $P < 0.0846$. El único binomio que no siguió este patrón fue el TSY20B/Sa $P < 0.5832$

Con el fin de analizar la aproximación a una distribución normal en el comportamiento de las UFC en los medios se aplicó la prueba de Shapiro Wilk, estableciéndose que sólo el medio TSY20B inoculado con saliva tiene una distribución cercana a la normalidad $P < 0.7112$, las otras combinaciones medio/inoculo no tienen distribuciones de normalidad $P < 0.01$ en el binomio MSB/saliva y en los dos medios inoculados con placa $P < 0.0000$ ambos, probablemente debido a la amplitud del rango en el crecimiento bacteriano (conteo de UFC). Gráfica 11

Ante este comportamiento las variables fueron interpretadas a través de un análisis multivariado de regresión lineal, salvándose la mejor transformación de los datos; siendo las fórmulas utilizadas para los medios inoculados con saliva en TSY20B $\text{Media} + 1^{0.2} - 1$; en MSB fue: $\text{Media} + 1^{0.2} - 1$.

0.00185732

0.0081968

Para los medios inoculados con placa la transformación fue logarítmica TSY20B $1 \ln \text{TSY} + 1(91.2604729)$ y en MSB $1 \ln \text{MSB} + 1(92.974418)$. Cuadro 4. gráfica 12

Posteriormente al aplicar un MANOVA. con las variables transformadas el análisis de la información demostró interacción entre los dos medios en las cohortes aunque está no fue estadísticamente significativa $P < 0.4135$. La interacción entre la cantidad de UFC en las cohortes y los inóculos fue estadísticamente significativa $P < 0.0227$

Existiendo por lo tanto diferencias significativas entre la cantidad de UFC entre los inóculos pero no entre los medios. El crecimiento bacteriano es diferente dependiendo del inoculo en cada medio

Este análisis sugirió la necesidad de establecer para cada cohorte el comportamiento de los binomios medio/inoculo encontrándose diferencias estadísticamente significativas en el crecimiento bacteriano en todas las cohortes $P < 0.0000$, existiendo un mayor número de UFC en TSY20B en saliva en todas las cohortes. Gráfica 13.

El coeficiente de determinación mas alto establecido entre las UFC y la actividad de caries fue para el binomio TSY20B inoculado con PDB $R^2 = 0.206$ Gráficas 14(a-d)

Cuando se realizó la comparación del promedio en el crecimiento de UFC entre las cohortes en cada binomio comparando todos los pares de promedios se realizó usando la prueba de Tukey, la cual determinó que en los binomios medio/inoculo TSY20B/Sa y MSB/Sa no existen diferencias entre los promedios. En los binomios con inoculos de PBD este comportamiento fue diferente en ambos medios el promedio de crecimiento en las UFC es diferente para la cohorte CA.

En el cuadro 5 se describen los valores de la regresión lineal realizada entre la experiencia de caries inicial, final e incidencia contra cada uno de los binomios utilizados.

Cuando se asocia la experiencia de caries inicial con los binomios medio/inoculo, el binomio TYS20B/Sa, fue el único que no presentó significancia estadística. Cuando se asocia la información sobre la experiencia final de la enfermedad con los binomios, el único que se asocio en forma estadísticamente significativa fue el TSY20B/PDB y este mismo medio inoculado con saliva sólo obtuvo una significancia marginal. Cuando se asociaron los binomios con el número de dientes que tuvieron incidencia de caries, sólo el TSY20B/PDB obtuvo una significancia marginal. Este medio inoculado con placa de fisuras y fosetas demostró ser el mejor indicador de riesgo para la experiencia cariogénica, cuando se cruza con las variables dependientes, ya que los coeficientes de determinación más altos se establecieron para este binomio.

Cuadro 2. Distribución de los UFC de *S. mutans* por tipo de inóculo realizado.

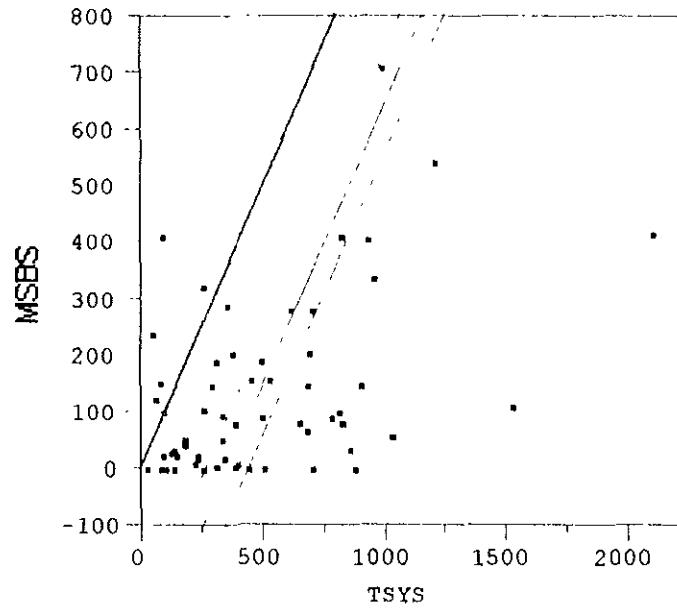
Muestra	n	TOTAL DE UFC ($\times 10^5$) DE <i>S. mutans</i>						valor de p	razón \pm Me.
		MSB			TSY20B				
		Promedio	Mediana	Rango	Promedio	Mediana	Rango		
Saliva	60	1.4	92	0-712	4.9	382	2080	p<0.0001	3.6
Placa	60	13.9	106	0-18240	12.9	166	0-11200	p<0.7646	0.9

n=numero de muestras

Valores de p = diferencias significativas de acuerdo a la prueba t apareada

Gráfica 7

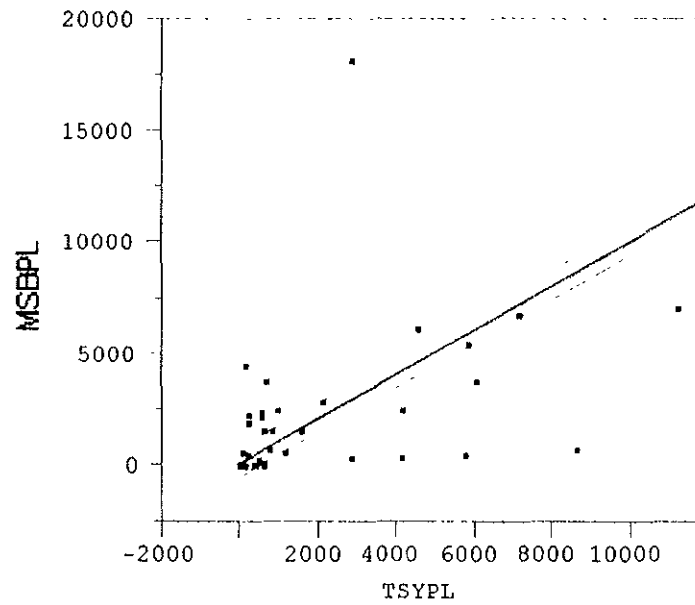
COMPARACION CON t APAREADA ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* EN LOS MEDIOS SELECTIVOS DE CULTIVO INOCULADOS CON SALIVA (MSB/S vs TSY20B/S)



$R^2 = 0.20$ $t = 7.774$ $P < 0.000$

Gráfica 8

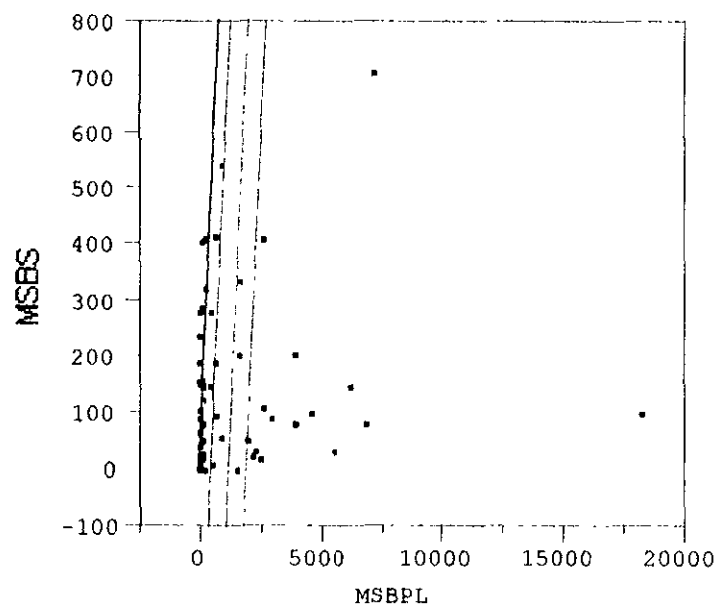
COMPARACION CON t APEREADA ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* EN LOS MEDIOS SELECTIVOS DE CULTIVO INOCULADOS CON PLACA DENTOBACTERIANA (MSB/PDB vs TSY20B/PDB)



$R^2 = 0.25$ $t = -0.3008$ $P < 0.7646$

Gráfica 9

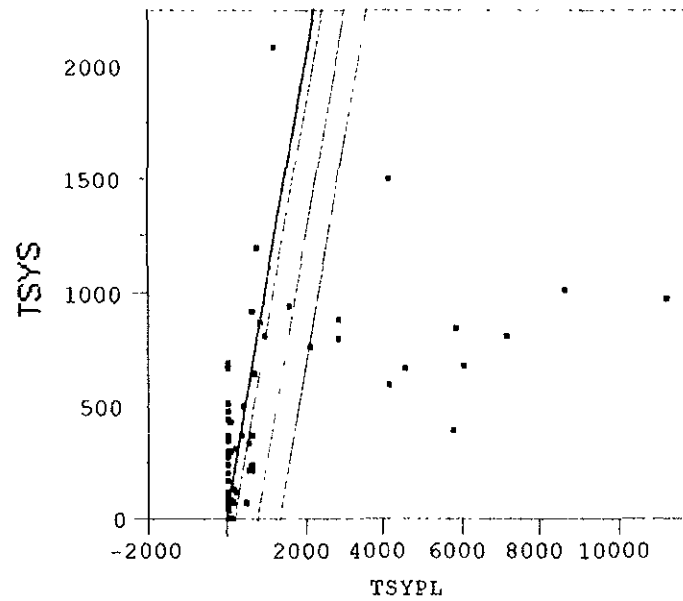
REGRESION LINEAL CON CALCULO DE t APAREADA ENTRE LOS DOS TIPOS DE INOCULO PARA EL MEDIO MSB
(SALIVA Y PLACA DENTOBACTERIANA)



$R^2 = 0.02$ $t = 3.418$ $P < 0.0011$

Gráfica 10

REGRESION LINEAL CON CALCULO DE t APAREADA ENTRE LOS TIPOS DE INOCULO PARA EL MEDIO TSY20B
(SALIVA Y PLACA DENTOBACTERIANA)



$R^2 = 0.23$ $t = 2.7648$ $P < 0.0076$

Cuadro 3. Actividad de caries y UFC de *S. mutans* (x10³) en saliva y placa por cohortes.

	Libre de Caries	Caries Leve	Caries Alta	F	Nivel de Significancia	r
	(n = 20)	(n = 20)	(n = 20)			
	Media	Media	Media			
Saliva × 10 ³						
N° total UFC/0.1 ml	81.4	142	187.0	2.58	0.0846	0.3442**
MSB	a	a	a			
N° total UFC/0.1 ml	498.0	422.3	552.6	0.54	0.5832	0.2107
TSY2OB	a	a	a			
Placa						
N° total UFC/0.1 ml	1400.4	133.0	2649.8	4.30	0.0183	0.2611*
MSB	b	a	b			
N° total UFC/0.1 ml	848	190	2834.7	8.16	0.0008	0.5541***
TSY2OB	a	a	b			

n= Tamaño de la muestra utilizado MSB, TSY2OB con actividad de Caries a través de ANOVA

r= Valores del coeficiente de correlación de Pearson utilizando medio de cultivo contra actividad de caries

*= Nivel de significancia estadística del coeficiente de correlación

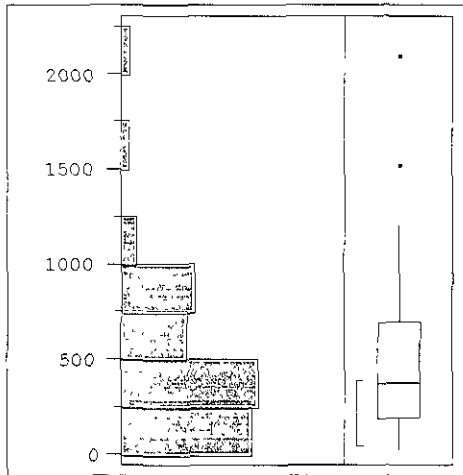
F=Nivel de significancia estadística utilizando el medio de cultivo vs actividad de caries de la cohorte a través de ANOVA

letras iguales corresponden a promedio que no tienen diferencias significativas en la prueba de Tukey

Gráfica 11

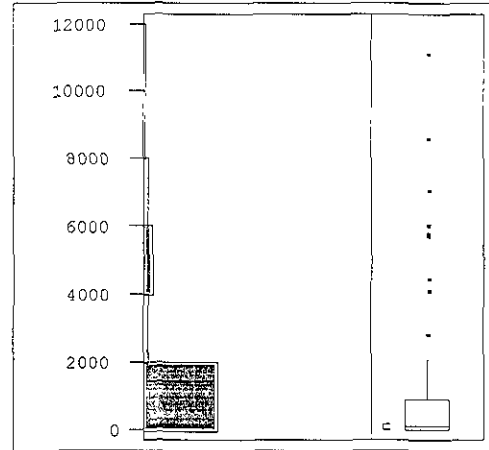
PRUEBA DE NORMALIDAD DEL NÚMERO DE UFC DE *S. mutans* EN LOS BINOMIOS ESTUDIADOS

TSY20B/Sa



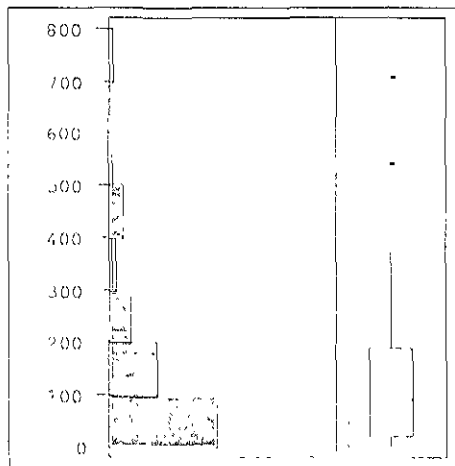
Shapiro-Wilk Prob<W 0.7112

TSY20B/PDB



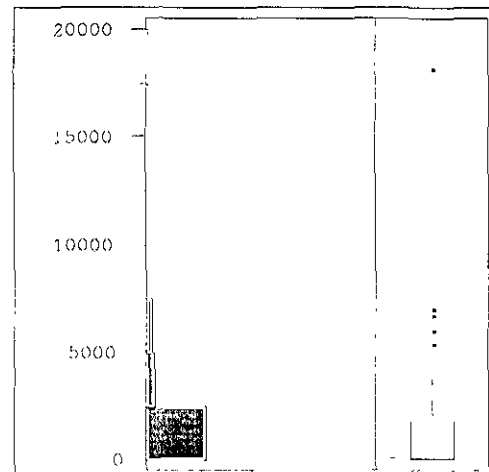
Shapiro-Wilk Prob<W 0.0000

MSB/Sa



Shapiro-Wilk Prob<W 0.0194

MSB/PDB



Shapiro-Wilk Prob<W 0.0000

Cuadro 4. Actividad de caries y UFC de *S. mutans* ($\times 10^3$) en saliva y placa por cohortes utilizando las variables con la mejor transformación.

	Libre de Caries (n = 20) Media	Caries Leve (n = 20) Media	Caries Alta (n = 20) Media	F	Nivel de Significancia	r
Saliva $\times 10^3$						
N° total UFC/0.1 ml	127.8	163.4	203.4	4.09	0.0217	0.3771
MSB	a	b	b			
N° total UFC/0.1 ml	1263.7	1125.1	1284.3	1.58	0.2136	0.1877
TSY2OB	a	a	a			
Placa						
N° total UFC/0.1 ml	362.9	317.5	583.8	5.49	0.0066	0.3153
MSB	a	a	b			
N° total UFC/0.1 ml	321.8	322	592.3	7.38	0.0014	0.4852
TSY2OB	a	a	b			

n= Tamaño de la muestra utilizado MSB, TSY2OB con actividad de Caries a través de ANOVA

r= Valores del coeficiente de correlación de Pearson utilizando medio de cultivo contra actividad de caries

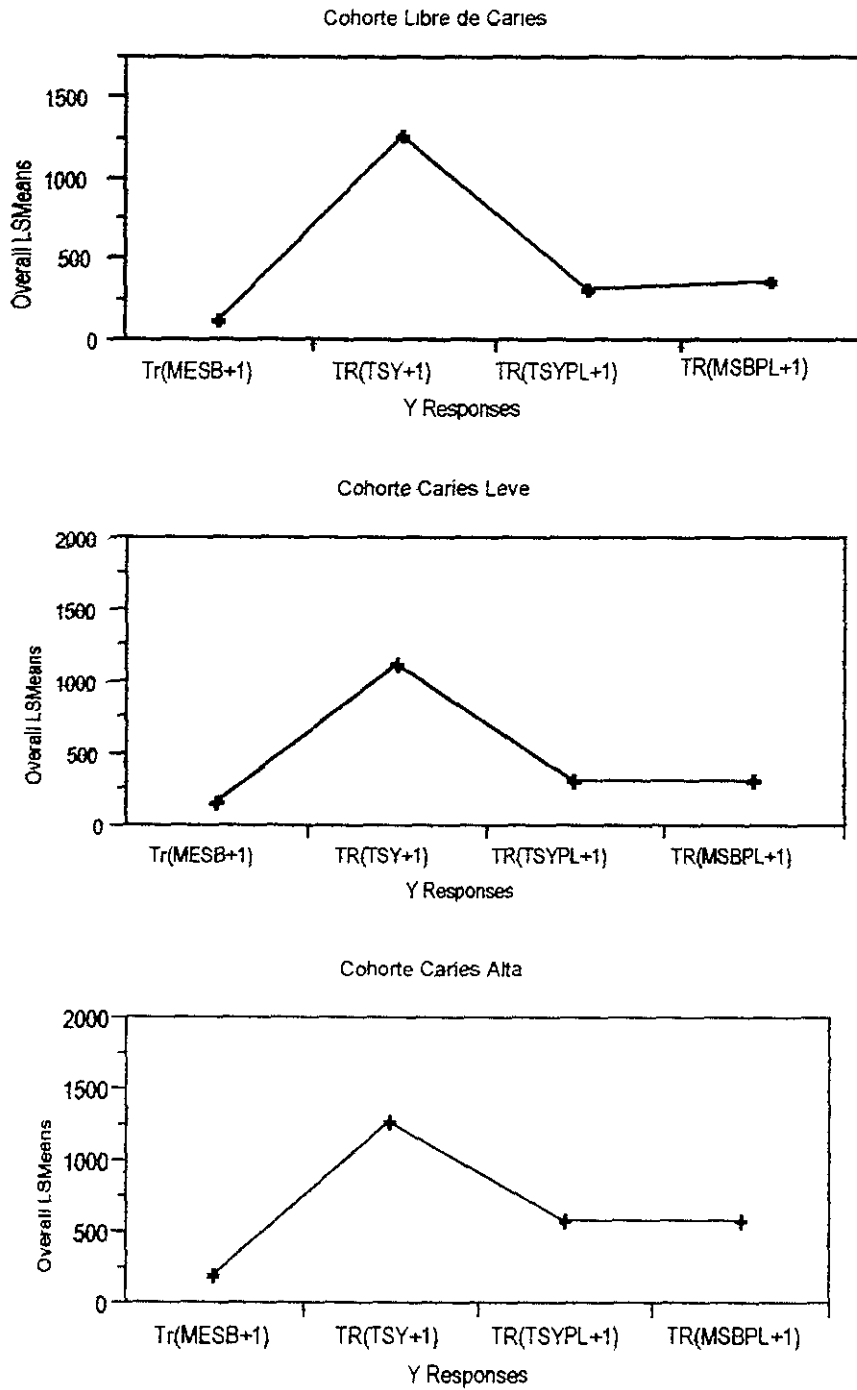
*= Nivel de significancia estadística del coeficiente de correlación

F=Nivel de significancia estadística utilizando el medio de cultivo vs actividad de caries de la cohorte a través de ANOVA

Letras iguales corresponden a promedios que no tienen diferencias significativas en la prueba de Tukey

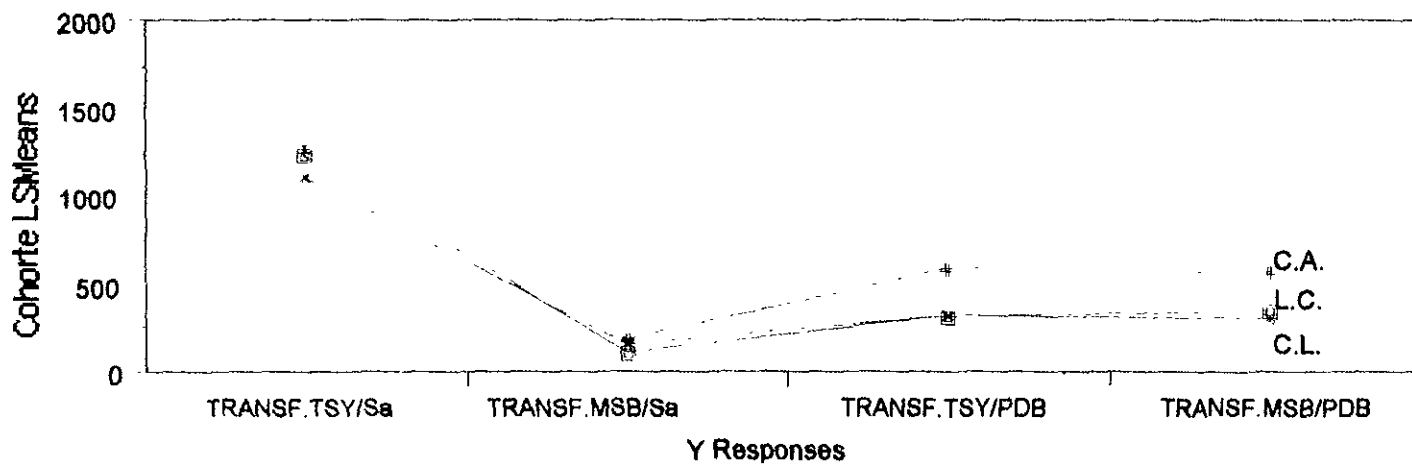
Gráfica 12

DISTRIBUCION DE LAS UFC DE S. mutans DE LOS BINOMIOS MEDIO/INOCULO EN CADA COHORTE



Gráfica 13

COMPORTAMIENTO DEL NUMERO DE UFC DE *S. mutans* EN LOS BINOMIOS MEDIO/INOCULO INTEGRANDO LAS VARIABLES TRANSFORMADAS

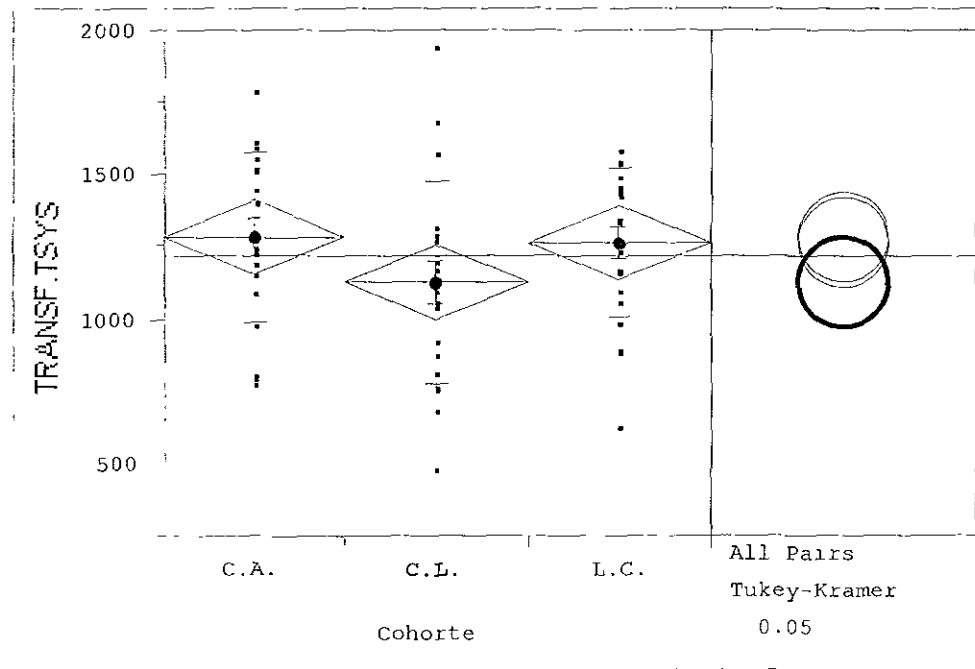


Cohorte	TRANSF.TSYS	TRANSF.MSBS	TRANSF.TSYPL	TRANSF.MSBPL
L.C.	1264 (a)	128 (a)	321 (a)	363 (a)
C.L.	1125 (a)	163 (a)	322 (a)	318 (a)
C.A.	1284 (a)	203 (b)	592 (b)	584 (b)
	$R^2=0.053$ $P<0.214$	$R^2= 0.128$ $P<0.023$	$R^2= 0.206$ $P<0.002$	$R^2= 0.162$ $P<0.007$

Letras iguales = promedios sin diferencias significativas

Gráfica 14a

ANALISIS DE VARIANZA CON PRUEBA DE TUKEY ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* SALIVALES EN TSY20B Y LAS COHORTES ESTUDIADA

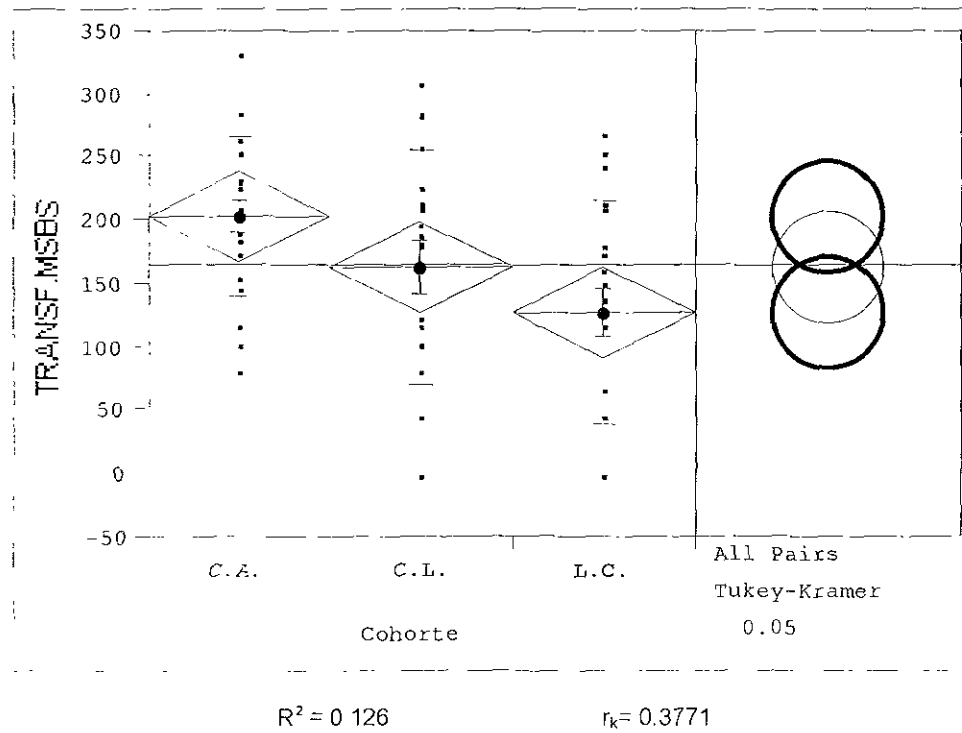


$R^2 = 0.053$

$r_k = 0.1877$

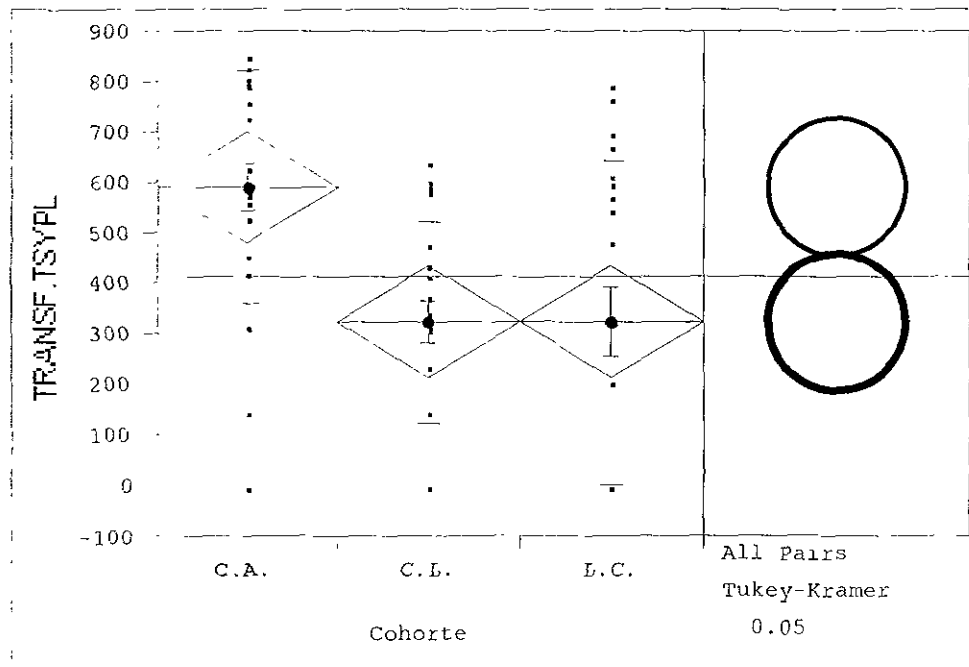
Gráfica 14b

ANALISIS DE VARIANZA CON PRUEBA DE TUKEY ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* SALIVALES EN EL MEDIO MSB Y LAS COHORTES ESTUDIADAS



Gráfica 14c

ANALISIS DE VARIANZA CON PRUEBA DE TUKEY ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* EN PLACA DENTOBACTERIANA EN TSY20B Y LAS COHORTES ESTUDIADAS

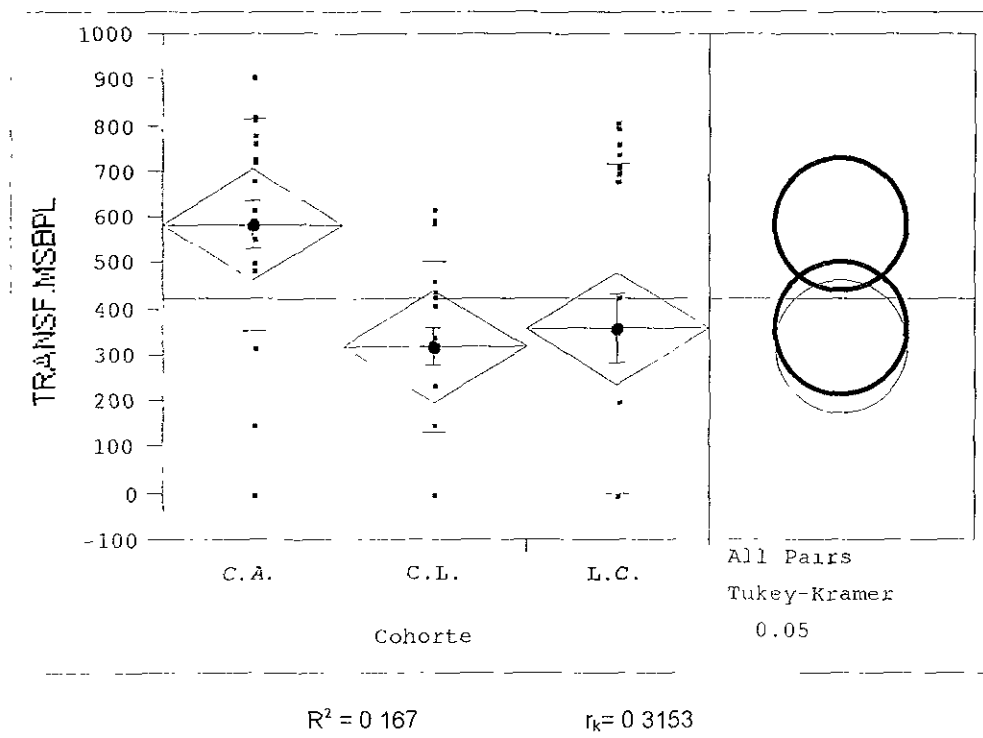


$R^2 = 0.206$

$r_k = 0.4852$

Gráfica 14d

ANALISIS DE VARIANZA CON PRUEBA DE TUKEY ENTRE LAS UFC DE *S. mutans* EN PLACA DENTOBACTERIANA EN MSB Y LAS COHORTES ESTUDIADAS



Cuadro 5. Valores de Regresión lineal entre experiencia de caries inicial y final por medio y tipo de inculo.

Medio Inculo	INICIAL		FINAL		INCIDENCIA	
	Significacia	R ²	Significacia	R ²	Significacia	R ²
MSB-Saliva	.0071	0.119	.3812	0.013	.5747	0.005
TSY2OB-Saliva	.1062	0.044	.1900	0.029	.3741	0.011
MSB-Placa	.0439	0.068	.3812	0.013	.5747	0.006
TSY2OB-Placa	0000	0.307	.0001	0.241	.0797	0.052
Caldo MSB	.2153	0.076	.5309	0.038	.8574	0.01
Caldo TSY	.2566	0.067	.4938	0.029	.0304	0.146

2c. Distribución del nivel de infección por *S. mutans* en caldos de cultivo selectivos. En el cuadro 6 se aprecia la distribución de la aproximación al conteo microbiano (nivel de infección), en las cohortes estudiadas en caldo mitis salivarius con bacitracina (MSB). El 13.3% de los niños fue negativo al cultivo, el 50% presentó un nivel de infección $<10^3$, el 23.3% presenta recuentos entre 10^4 y 10^5 y el 13.3% presentó el nivel de infección más alto $>10^5$.

El 95% de los niños de la cohorte de CL se encontró entre niveles NC y $<10^3$. El 50% de los niños con una alta actividad de caries tenía niveles de *S. mutans* $>10^4$. La cohorte LC fue la que presentó el mayor porcentaje de las observaciones (55%) en los niveles más altos de infección registrados a través de esta técnica; se estableció con la prueba de Kruskal Wallis que el nivel de infección no se distribuye en forma homogénea $P<0.0013$. La cohorte LC mostró una tendencia de mayor frecuencias de los valores esperados en el más alto nivel de infección $>10^5$. La cohorte de niños con CL presentó una mayor frecuencia en los valores observados en los niveles $<10^4$. Y en la cohorte de los niños CA la tendencia fue de mayor número de frecuencias observadas vs esperadas en la categoría de 10^4 - 10^5 , (Gráficas 15 a y b). Se estableció la asociación entre las variables a través de la prueba de correlación no paramétrica (coeficiente de correlación de Kendall r_k), encontrándose que no había asociación entre las variables cohorte y nivel de infección $r_k = -0.0394$ ($P<0.6498$).

El análisis de la información sugiere que los niños de la cohorte LC tienen más bacterias, y que la cohorte CL se asocia a los niños que se identificaron como negativos al cultivo.

Cuando esta variable se analiza con la incidencia del proceso carioso se determinó que la mayoría de los niños (18 de 30) con niveles de infección consideradas leves $<10^3$ tuvo incidencia de caries; el 60% de los niños que se identificaron en ese grupo considerados de bajo riesgo desarrollo nuevas lesiones cariosas (cuadro 7, gráfica 16).

Al asociar estas variables (nivel de infección por *S. mutans* e incidencia) se estableció un coeficiente de asociación débil y no significativo, $r_k = -0.0844$ ($P<0.4863$).

En el cuadro 8 se describe la aproximación del conteo microbiano en las cohortes estudiadas en caldo de soya tripticaseina

El 36.3% de los niños se identificaron con niveles $\leq 10^3$, el 35% con niveles de infección entre 10^4 y 10^5 y el 28% con niveles $>10^5$. En la cohorte LC el mayor porcentaje de estos niños 40% (n=8) se encontró entre $10^4 - 10^5$, categoría que corresponde a niveles de infección medio.

El 55% de la cohorte CL se identificó con un nivel de infección ligero ($<10^3$). En la cohorte de CA el 45% (n=9) se identificó con los niveles de infección mas elevados por *S. mutans* de las 3 cohortes. El nivel de infección determinado con este caldo de cultivo y la cohorte asignada tuvo un coeficiente de correlación ligero ($r_k=0.1093$, $P<0.3406$) y no significativo. Al realizar un análisis de varianza de una sola vía se estableció a través de la prueba de Kruskal Wallis, que al menos una de las medias de rangos en las cohortes es diferente de las demás ($P<0.0477$) (gráficas 17) en la gráfica 18 se aprecia la correspondencia entre el nivel de infección y la cohorte estudiada ($P<0.044$).

La relación entre la incidencia de caries y este caldo de cultivo se presenta en el cuadro 9 y gráfica 19; de los 38 niños (21+17) que presentaron niveles de infección $\geq 10^4$ (63.3%). 22 de estos niños (58%) desarrollaron caries. El porcentaje de los niños que desarrollo la enfermedad de aquellos considerados de bajo riesgo (N.C. y $<10^3$) de los 22 niños considerados como no expuestos 14 enfermaron, es decir el 63.6% de esos niños y solo 8 no presentaron un cuadro adicional de enfermedad.

Se estableció un coeficiente de correlación negativo y estadísticamente no significativo, ($r_k=-0.1463$; $P<0.2290$) entre las variables (incidencia vs caldo de soya). La homogeneidad de la distribución fue similar a la de este microorganismo en caldo MSB.

El cuadro 10 presenta la asociación entre los dos caldos utilizados. El caldo MSB presento el mayor porcentaje de observaciones (63.3%) en las categorías de menor riesgo N.C. y $<10^3$, mientras que en forma inversamente proporcional el 63.3% de las observaciones en caldo soya tripticaseina fueron en las categorías de mayor riesgo $>10^4$. El factor de asociación establecido entre los caldos fue de

$r_k=0.5181$ ($P<0.0000$). Al realizar una tabla de contingencia se observó que esta distribución no fue homogénea y presentó diferencias significativas. Al elaborar un análisis de correspondencias, aplicando la prueba de χ^2 se estableció que la detección del nivel de infección depende del medio de cultivo que se utilice ($P<0.0007$), gráfica 20.

En el cuadro 11 se presentan las correlaciones entre los medios de cultivo utilizados y su asociación con la prevalencia e incidencia de caries. (no se incluyó la información sobre los caldos de cultivo utilizados, ya que no se estableció una correlación significativa entre estos y las variables de análisis)

Cuando se asocian los medios con la experiencia inicial de caries (ceo+CPO) se obtuvieron coeficientes de correlación significativos con el medio MSB/Sa y MSB/PDB ($P<0.01$) y con TSY2OB/PDB ($P<0.001$). La experiencia final de caries (ceo+CPO) se asocia con el medio TSY2OB/Sa al 95% de confianza y con PDB al 99.9% de confianza.

Cuadro 6. Cohorte contra nivel de infección por *S. mutans* en caldo MSB.

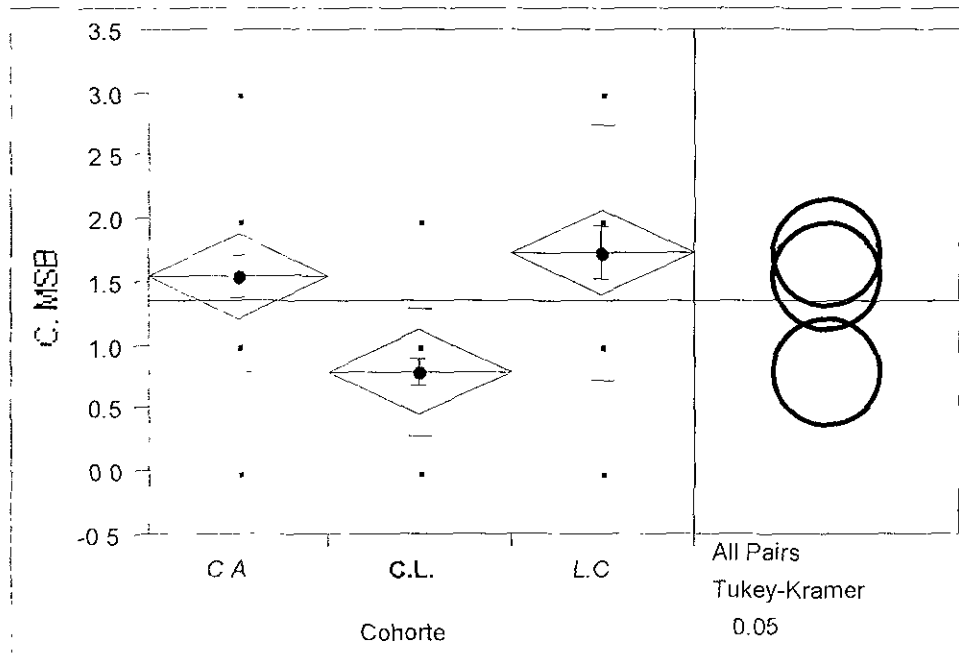
Cohorte	Nivel de Infección								Total	
	N.C.		<10 ³		10 ⁴ - 10 ⁵		≥10 ⁵			
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Libre de caries	2	10	7	35	5	25	6	30	20	100
C. Leve	5	25	14	70	1	5	-	-	20	100
C. Alta	1	5	9	45	8	40	2	10	20	100
Total	8	13.3	30	50	14	23.3	8	13.3	60	100

H= 13 21 P< 0 0013

N.C = Negativo al Cultivo

Gráfica 15a

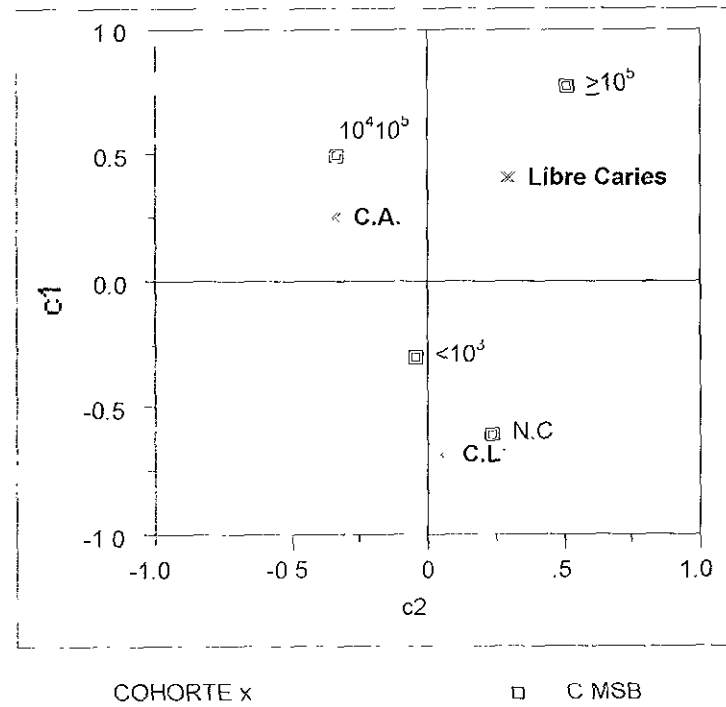
ANALISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS SOBRE LA DISTRIBUCION DEL *S. mutans* EN CALDO MITIS SALIVARIUS CON BACITRACINA EN LAS COHORTE



$P < 0.0013$

Gráfica 15b

ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE EL CALDO MITIS SALIVARIUS CON BACITRACINA EN LAS COHORTES ESTUDIADAS



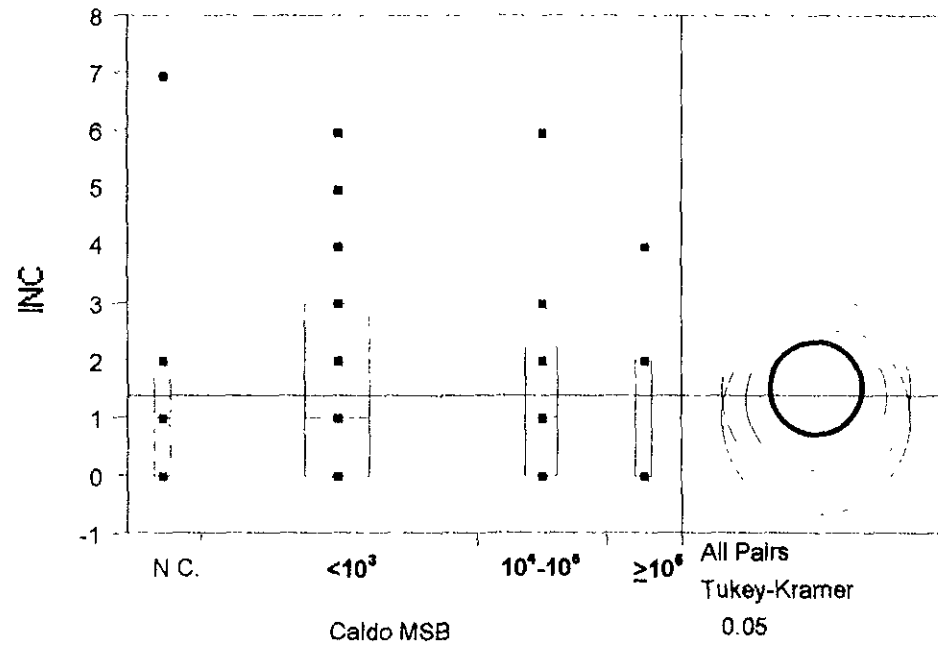
Cuadro 7. Relación entre la incidencia de caries dental y la distribución del nivel de infección en caldo de cultivo MSB.

Incidencia	Nivel de Infección por <i>S. mutans</i>				Total	%
	N.C.	$<10^3$	$10^4 - 10^5$	$\geq 10^5$		
0	3	12	5	4	24	40.0
1	3	7	5	1	16	26.6
2	1	3	1	2	7	11.7
3	-	2	2	-	4	6.7
4	-	4	-	1	5	8.3
5	-	1	-	-	1	1.7
6	-	1	1	-	2	3.3
7	1	-	-	-	1	1.7
Total	8	30	14	8	60	100

$r_k = -0.0844$ $P < 0.4863$

Gráfica 18

ANALISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA INCIDENCIA DE CARIES DENTAL Y NIVEL DE INFECCION EN CALDO DE CULTIVO MSB



P<0.8574

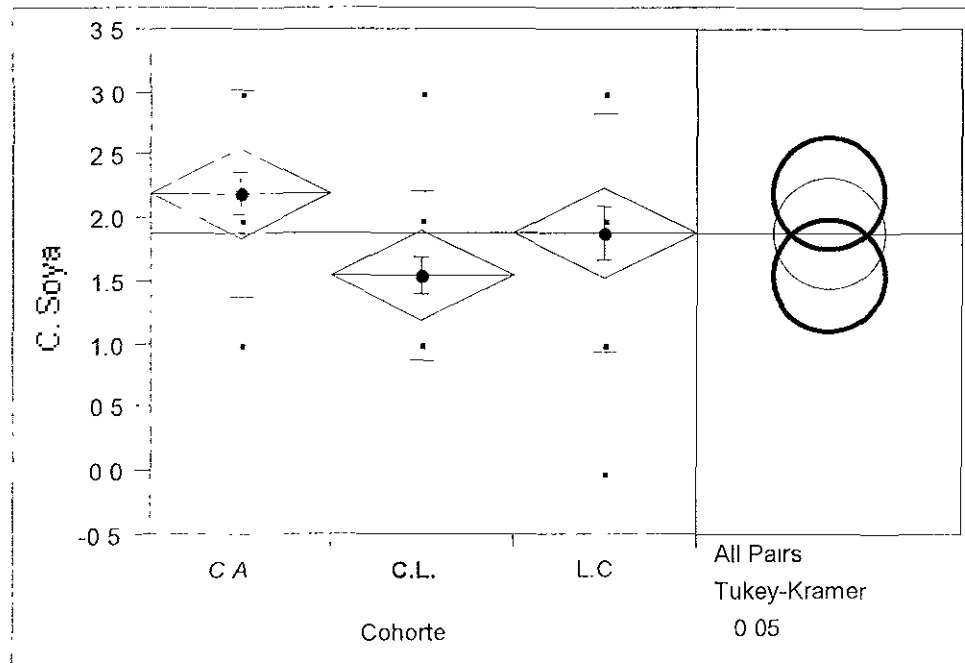
Cuadro 8. Cohorte contra nivel de infección por *S. mutans* cultivado en caldo de soya tripticaseina.

Cohorte	Nivel de Infección								Total	
	N.C.		<10 ³		10 ⁴ - 10 ⁵		>10 ⁵			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Libre de caries	2	10	4	20	8	40	6	30	20	100
C. Leve	-		11	55	7	35	2	10	20	100
C. Alta	-		5	25	6	30	9	45	20	100
Total	2	3.3	20	33.3	21	35	17	28.3	60	100

H = 6.083 P < 0.0477

Gráfica 17

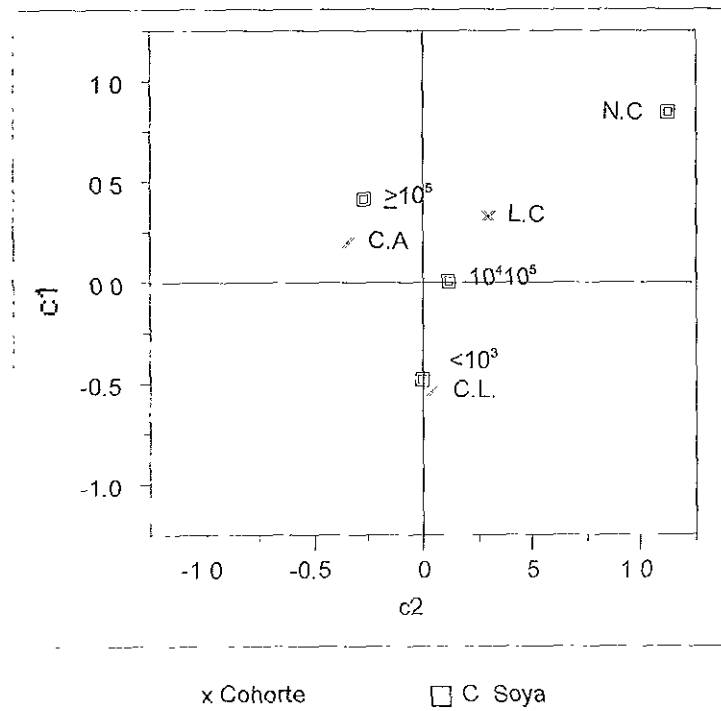
ANALISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA DISTRIBUCION DEL CALDO DE SOYA TRIPTICASEINA Y LAS COHORTES ESTUDIADAS



P<0.0477

Gráfica 18

ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE EL CALDO DE SOYA TRIPTICASEINA Y LAS COHORTES ESTUDIADAS



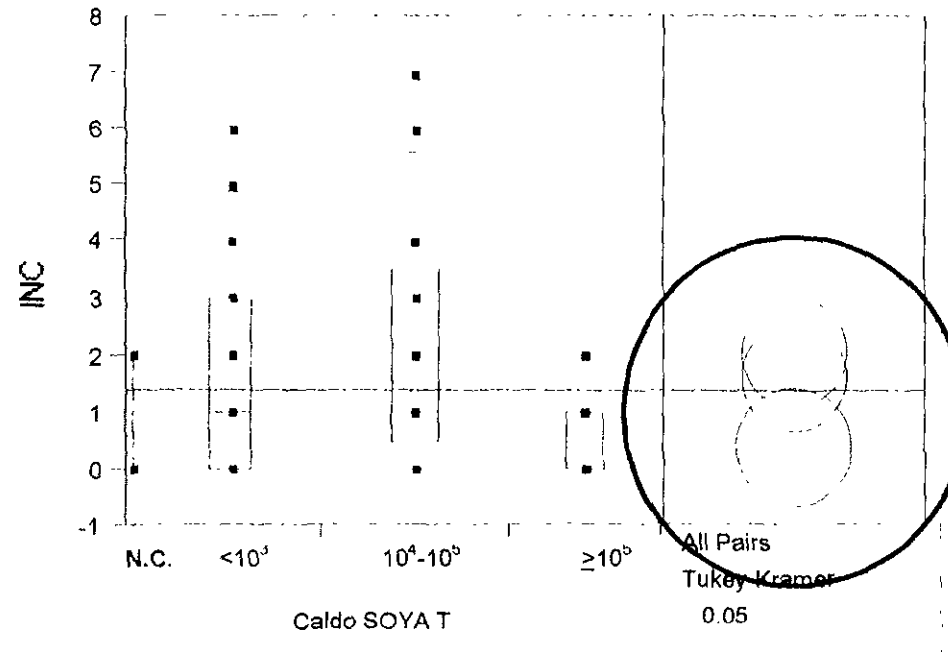
Cuadro 9. Relación entre la incidencia de caries dental y la distribución del nivel de infección en caldo soya tripcaseina.

Incidencia	Nivel de Infección por <i>S. mutans</i>				Total	%
	N.C.	$<10^3$	$10^4 - 10^5$	$\geq 10^5$		
0	1	7	5	11	24	40
1	-	5	6	5	16	26.6
2	1	2	3	1	7	11.7
3	-	2	2	-	4	6.7
4	-	2	3	-	5	8.3
5	-	1	-	-	1	1.7
6	-	1	1	-	2	3.3
7	-	-	1	-	1	1.7
Total	2	20	21	17	60	100

$$r_k = -0.1463 \quad P < 0.2290$$

Gráfica 19

ANALISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA INCIDENCIA DE CARIES DENTAL Y NIVEL DE INFECCION EN CALDO DE CULTIVO DE SOYA TRIPTICASEINA



P<0.0304

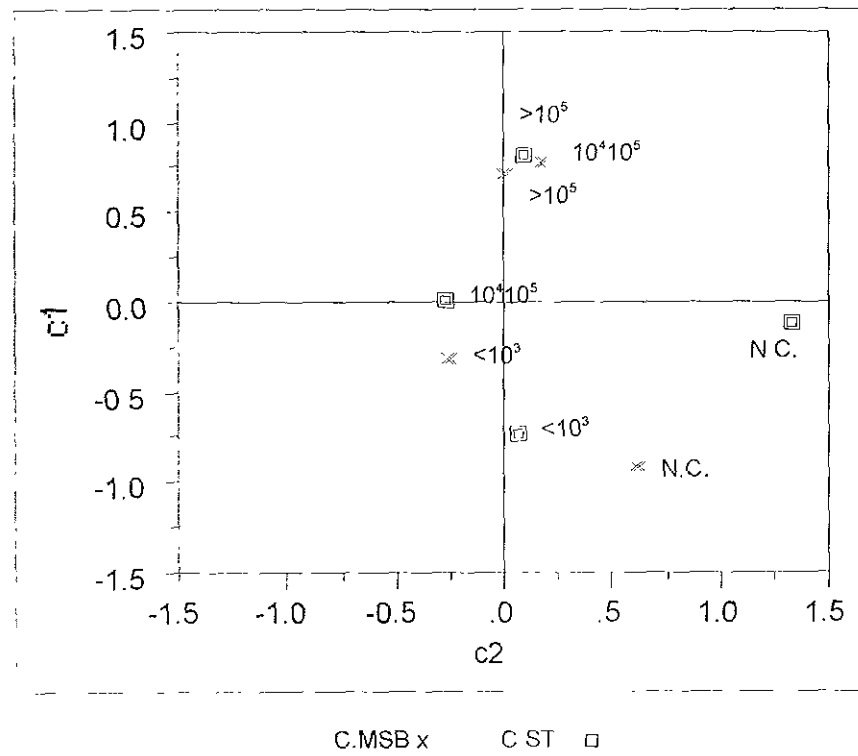
Cuadro 10. Tabla de contingencia entre el caldo MSB y el caldo de soya tripticaseina.

Caldo MSB	Caldo Soya								Total	
	N.C.		<10 ³		10 ⁴ - 10 ⁵		≥10 ⁵			
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
N.C.	1	1.7	6	10.0	1	1.7	-	-	8	13.3
<10 ³	-	-	13	21.7	13	21.7	4	6.7	30	50.0
10 ⁴ - 10 ⁵	1	1.7	-	-	5	8.3	8	13.3	14	23.4
≥10 ⁵	-	-	1	1.7	2	3.3	5	8.3	8	13.3
Total	2	3.4	20	33.3	21	35.0	17	28.3	60	100

$$r_k = 0.5181 \quad P < 0.0000$$

Gráfica 20

ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE LOS CALDOS DE CULTIVO MITIS SALIVARIUS Y SOYA TRIPTICASEINA



Cuadro 11 Correlación de los medios de cultivo para identificación de *S. mutans* y experiencia inicial y final de caries.

Medio	Inoculo	EXP. C. I.	EXP. C. F.
MSB/SALIVA		.3442 **	.1571
TSY2OB/SALIVA		.2107	.2619 *
MSB/DB		.2611 **	.1809
TSY2OB/DB		.5541 ***	.4664 ***
CALDO MSB		-.0455	.0335
CALDO SOYA-T		.0998	.0429

* P<0.05

** P<0.01

*** P<0.001

2d. Lactobacilos en medios sólidos. El recuento de UFC de *Lactobacillus sp* por tipo de muestra utilizada, en las muestras de saliva se estableció un promedio de UFC de 17.2 (x10³), una mediana de 0 y un rango de 156; si bien el conteo de UFC en saliva se puede considerar moderado entre 10⁴ y 10⁵, no se identificó ningún crecimiento bacteriano cuando este medio se inoculó con PDB extraída del medio de transporte VGMIII.

En el cuadro 12, se presenta la distribución de esta bacteria en las cohortes estudiadas; se aplicó un análisis de varianza, el cual demostró que no existían diferencias significativas entre los promedios de UFC de lactobacilos en las cohortes $P < 0.1790$ (gráfica 21). El coeficiente de correlación establecido fue ligero y no significativo $r_k = 0.1791$; $P < 0.1709$. Al analizar la información a través de un modelo de tamizaje o proyección se estimó que los promedios de las UFC en las cohortes LC y CL es similar $P < 0.9854$, mientras que al comparar las cohortes de niños LC vs CA el conteo de UFC es más del doble $P < 0.065$, estimándose que existe una significancia marginal entre los promedios de UFC en estas dos cohortes.

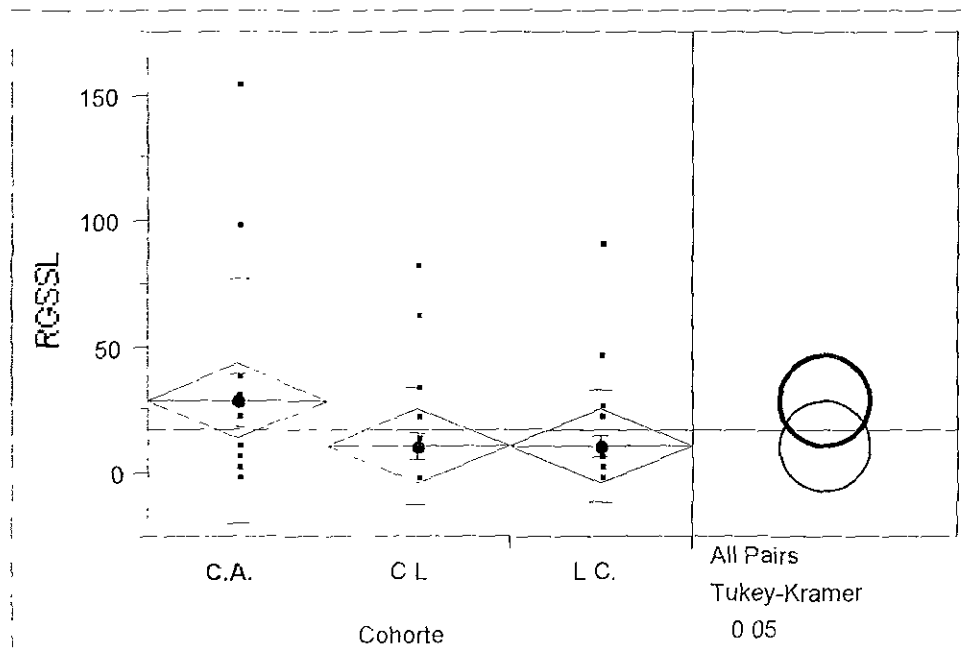
En la gráfica 22 se aprecia la línea de regresión entre el número de UFC de *Lactobacillus sp* y la experiencia de caries inicial y final de los niños estudiados. Al inicio el coeficiente de determinación calculado fue de 0.48 y el análisis de varianza estableció que no había diferencias estadísticamente significativas entre la experiencia de caries (ceo+CPO-D) y el número de UFC $P < 0.0927$. Al finalizar el estudio se estimó un coeficiente de determinación menor 0.43 así como un valor de la probabilidad mayor en el análisis de varianza $P < 0.1116$. El coeficiente de correlación de Pearson establecido al inicio fue de $r = 0.2190$ y con la experiencia final de la enfermedad, este había seguido el mismo patrón de disminución $r = 0.2076$.

Cuadro 12. Distribución de *Lactobacillus sp.* salivales en las cohortes.

Saliva ($\times 10^3$)	Actividad de Caries						F	r	sig	R ²
	Libre de caries		Caries Leve		Caries Alta					
	Promedio	Rango	Promedio	Rango	Promedio	Rango				
Medio Rogosa	11.4	N.C. - 92	11.2	N.C.-84	29	N.C. - 156	1.7737	1791	0.1709	0.058

Gráfica 21

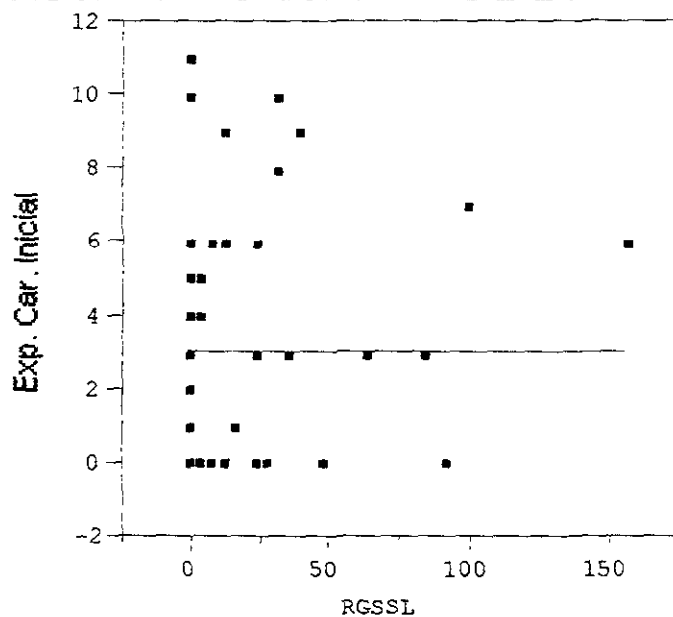
ANALISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA CANTIDAD DE UFC DE *Lactobacillus* sp. Y LAS COHORTES ESTUDIADAS



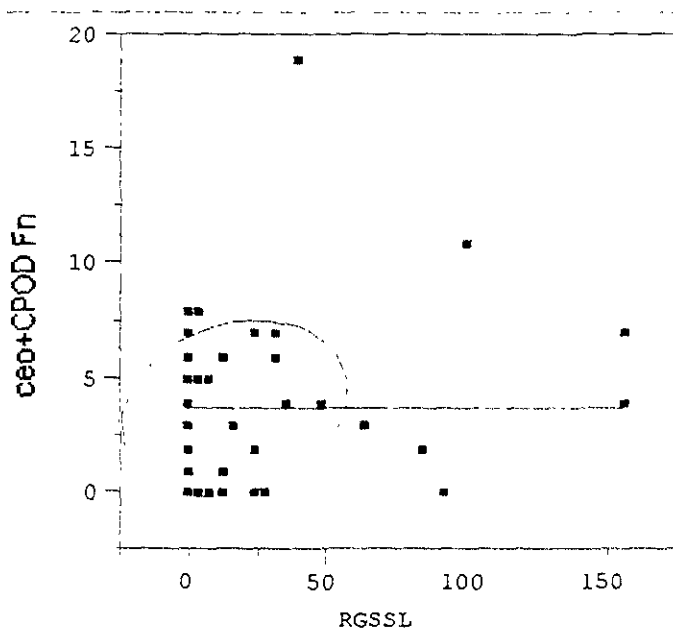
P<0.1790

Gráfica 22

ANÁLISIS DE REGRESIÓN ENTRE EL NÚMERO DE UFC DE *LACTOBACILLUS* sp Y LA EXPERIENCIA INICIAL Y FINAL DE CARIES



$P < 0.0927$



$P < 0.1116$

2e. Actividad cariogénica medida a través de la velocidad de formación de ácidos. Cuando se caracterizó la actividad cariogénica utilizando la prueba de Snyder, que mide la capacidad de la saliva para fermentar el azúcar contenida en el medio. El indicador (verde de bromocresol) cambia del verde azulado al amarillo a medida que el pH disminuye, lo cual ha sido considerado como una indicación del aumento en la cantidad de ácido formado. Cuanto más profundo es el amarillo y más rápido es el cambio de color, mayor es la cantidad de ácido que los lactobacilos han formado.

Se estableció, en las cohortes estudiadas a través de análisis de varianza de Kruskal Wallis que la distribución de la actividad cariogénica de al menos una de las medias de rangos es diferente de la demás ($P < 0.007$) como se observa en el cuadro 13. gráfica 23.

En la cohorte LC predominan los niños con una actividad cariogénica moderada: en la cohorte CL, en el 50% de las observaciones se determinó una actividad cariogénica ligera. La cohorte CA presentó los valores mas elevados, el 45% de las observaciones en la categoría de actividad de caries moderada así mismo se registró en esta cohorte el mas alto porcentaje de niños con actividad de caries marcada (25%). El coeficiente de correlación no paramétrico fue ligero y no significativo, $r_k = 0.1422$; $P < 0.2076$. En la gráfica 24 se observa esta información a través de un análisis de correspondencia.

En la gráfica 25 y el cuadro 14 se observa la distribución de la incidencia de caries dental vs la prueba de Snyder, se estableció un factor de asociación no significativo $r_k = 0.1684$, $P < 0.1592$. El análisis de varianza de una sola vía de Kruskal Wallis demostró que las medias de los rangos eran estadísticamente iguales $P < 0.5449$.

Al aplicar un modelo logístico para analizar la información se estableció que no había diferencias significativas entre la distribución de la actividad cariogénica y las cohortes seleccionadas $P < 0.901$, así como tampoco con la incidencia $P < 0.681$, pareciendo ser independientes

Para analizar la dependencia entre las variables de caries inicial, final e incidencia vs los medios selectivos para lactobacilos (cuadro 15), se aplicaron modelos de regresión lineal cuando la variable independiente era el número de UFC en el binomio Rogosa SL/Sa y las variables dependientes los índices cariogénicos. el modelo de análisis de varianza de Kruskal Wallis se aplicó cuando la variable independiente era la prueba de Snyder (variable ordinal) y las variables dependientes los índices cariogénicos.

Se obtuvieron valores en la regresión lineal no significativos $P < 0.5449$ para el binomio Rogosa SL/Sa cuando se asocia esta información con la experiencia de caries inicial y final, así como con la incidencia de la enfermedad, para la prueba de Snyder la experiencia final de caries fue la única variable, en la que se estableció cierto valor pronostico, $P < 0.0120$.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

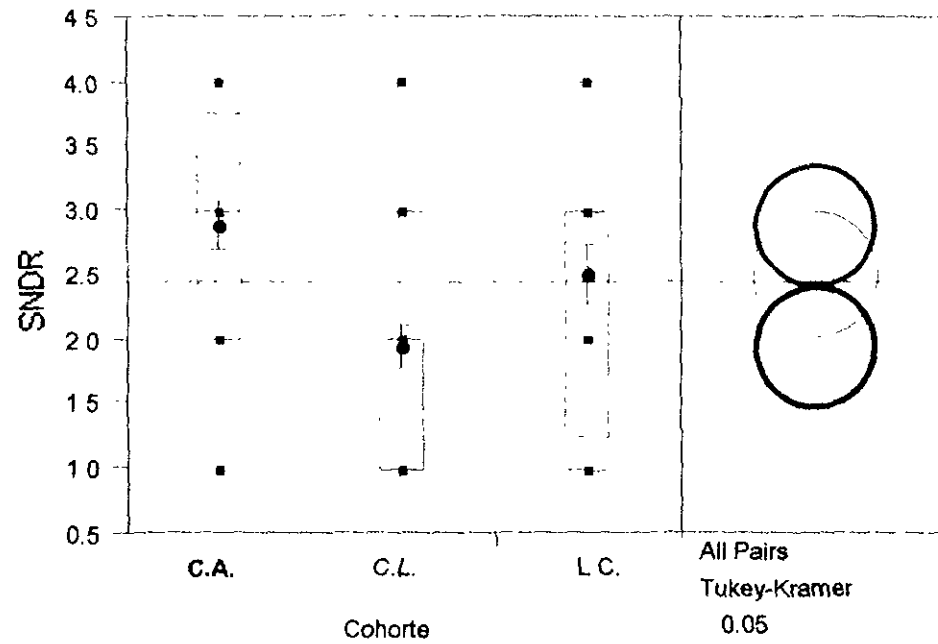
Cuadro 13. Distribución de la actividad cariogénica determinada a través de la prueba de Snyder en cada una de las cohortes.

Cohorte	Actividad Cariogenica								Total	
	Negativa		Ligera		Moderada		Marcada			
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Libres de Caries	5	25	3	15	9	45	3	15	20	100
C. Leve	6	30	10	50	3	15	1	5	20	100
C. Alta	1	5	5	25	9	45	5	25	20	100
Total	12	20	18	30	21	35	9	15	60	100

H= 9.87 P < 0072

Gráfica 23

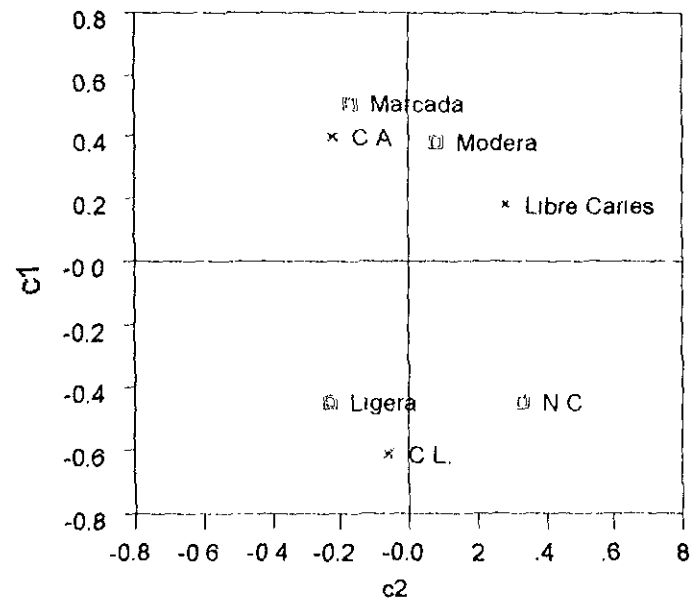
ANALISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA CAPACIDAD DE ACIDIFICACION DE LOS LACTOBACILOS EN EL MEDIO DE SNYDER Y LAS COHORTES



$P < 0.007$

Gráfica 24

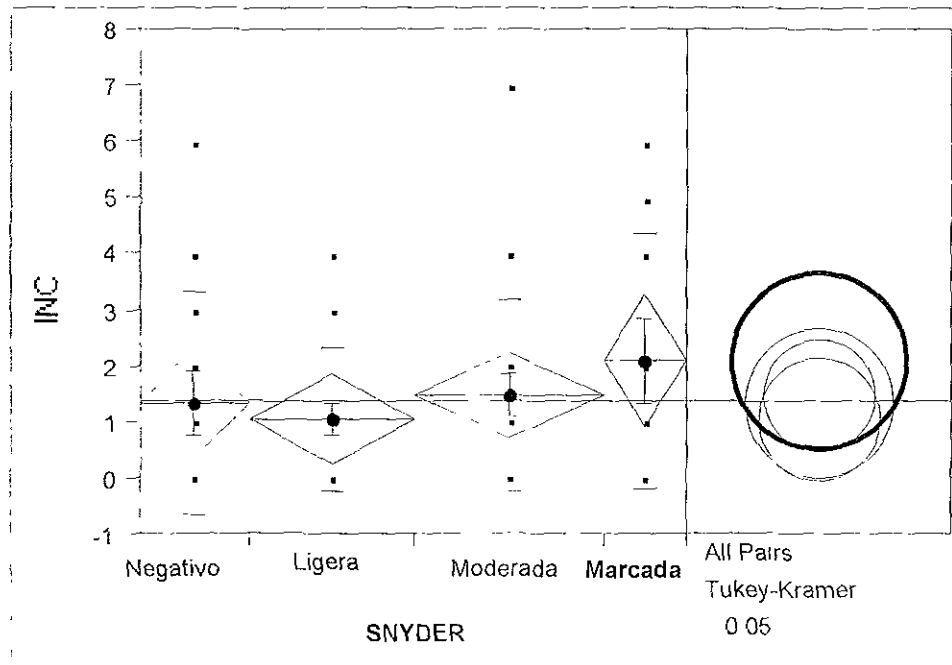
ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE LA ACTIVIDAD CARIOGENICA Y LAS COHORTES ESTUDIADAS



COHORTE x
SNYDER □

Gráfica 25

ANALISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL WALLIS ENTRE LA VELOCIDAD DE ACIDIFICACION DE LOS LACTOBACILOS Y LA INCIDENCIA DE CARIES DENTAL



Cuadro 14. Velocidad de acidificación (Snyder) e incidencia de caries.

Incidencia n° de dientes	Actividad Cariogenica				Total	
	Negativa	Ligera	Moderada	Marcada	n°	%
0	6	8	7	3	24	40
1	2	6	6	2	16	26.7
2	1	-	5	1	7	11.7
3	1	3	-	-	4	6.7
4	1	1	2	1	5	8.3
5	-	-	-	1	1	1.7
6	1	-	-	1	2	3.3
7	-	-	1	-	1	1.7
Total	12	18	21	9	60	100

$H_0 = 0.7189$ $P < 0.5449$

Cuadro 15. Valores de regresión lineal y logística ordinal entre las pruebas que utilizan *Lactobacillus sp.* * y el comportamiento del proceso carioso.

Medios /caries	F	sig	r	R ²
Rog vs Exp. C. Inicial	2.9229	0.079	0.2190	0.1130
Rog vs Exp. C. Final	2.073	0.1116	0.1857	0.0400
Rog vs Incidencia	0.00003	0.9986	0.0002	0.0000
P. Snyder vs Exp. C. Inicial	2.7566	0.17	0.2130	0.0454
P. Snyder vs Exp. C. Final	4.9431	0.03	0.2802*	0.1133
P. Snyder vs Incidencia	1.0047	0.61	0.1305	0.0370

Rog - Rogosa LB

Snyder LB

*Significacia Estadística

2f. Biotipificación de los estreptococos de la PDB. En el cuadro 16, se describe la caracterización e identificación bioquímica de los estreptococos hechos a partir del muestreo de PDB de fosetas y fisuras: El 80% de los microorganismos identificados correspondieron al grupo mutans y el 20% restante correspondió a estreptococos considerados como no cariogénicos

Del grupo mutans los estreptococos identificados en la en la población estudiada fueron: el 3.3% *S. cricetus*, el 5.0% *S. rattus*, el 31.7% *S. mutans* y el 40% *S. sobrinus*. De los estreptococos cultivados, considerados como no cariogénicos estos se distribuyeron de la siguiente manera: el 3.3% de los niños presentó colonizadas las superficies oclusales del primer molar por *S. mitis*, el 6.7% por *S. salivarius* y el restante 10% por *S. sanguis*.

Su distribución en cada una de las cohortes fue: en la cohorte LC predominó el *S. mutans* (n=10 de 20), en la cohorte de niños con CL es mayor el porcentaje fue de *S. sobrinus* (n=7 de 20) y en la cohorte de niños con CA se presentó también un mayor predominio de *S. sobrinus* (n=10 de 20). Gráfica 26. Al aplicar un análisis de varianza de Kruskal Wallis se determinó que no había diferencias entre el tipo de bacteria tipificada y la cohorte.

La biotipificación del grupo mutans y la incidencia de caries dental se observa en el cuadro 17, la información indica que no hubo asociación entre el tipo de bacterias y la incidencia de caries $r_k = 0.1993$, $P < 0.1093$ (Gráfica 27)

Cuadro 16. Identificación bioquímica de los Streptococcus en las cohortes estudiadas.

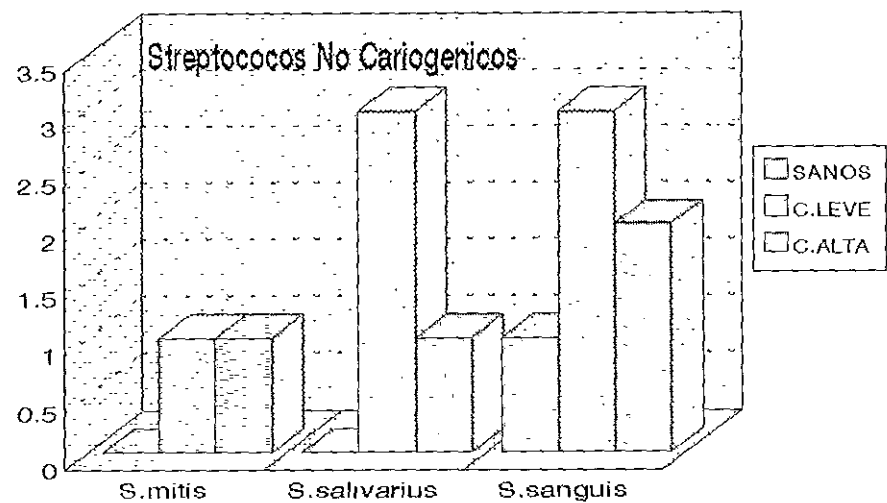
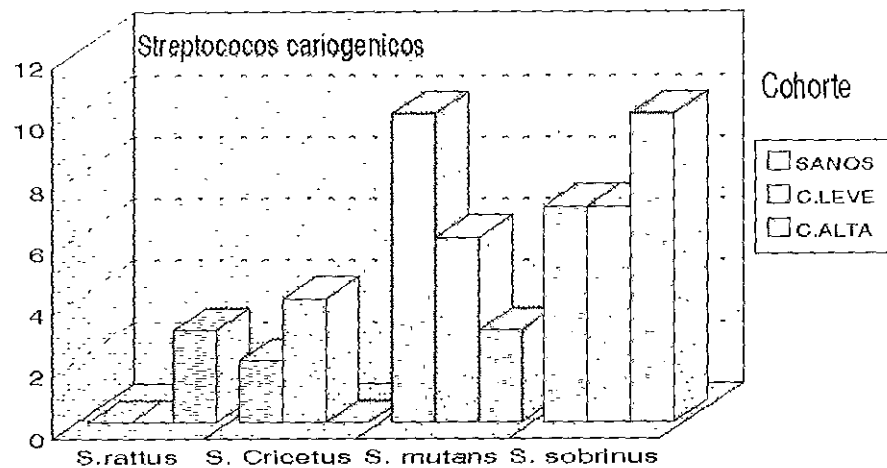
Streptococos	Cohorte							
	Sanos		C. Leve		C. Alta		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Cariogenicos								
S. rattus	-		-		3	5.0	3	5.0
S. Cricetus	2	3.3	-		-		2	3.3
S. Mutans	10	16.7	6	10.0	3	5.0	19	31.7
S. sobrinus	7	11.7	7	11.7	10	16.7	24	40.0
Streptococos No Cariogenicos								
S. mitis	-		1	1.7	1	1.7	2	3.3
S. salivarius	-		3	5.0	1	1.7	4	6.7
S. sanguis	1	1.7	3	5.0	2	3.3	6	10.0
Total	20	33.3	20	33.3	20	33.3	60	100

Ho= 0.5341 P< 0.7656

r = -.1349

GRAFICA 26.

DISTRIBUCION DE LOS ESTREPTOCOCOS EN LA COHORTES.



Cuadro 17. Distribución de la incidencia y la identificación bioquímica del grupo Streptococos.

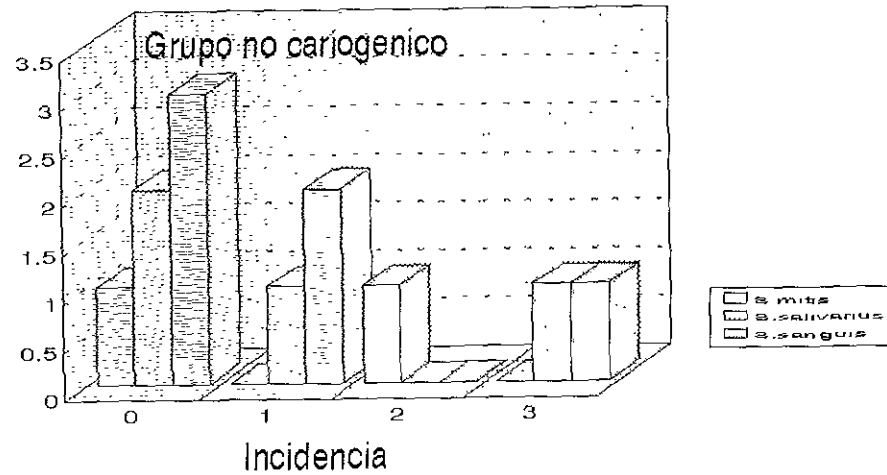
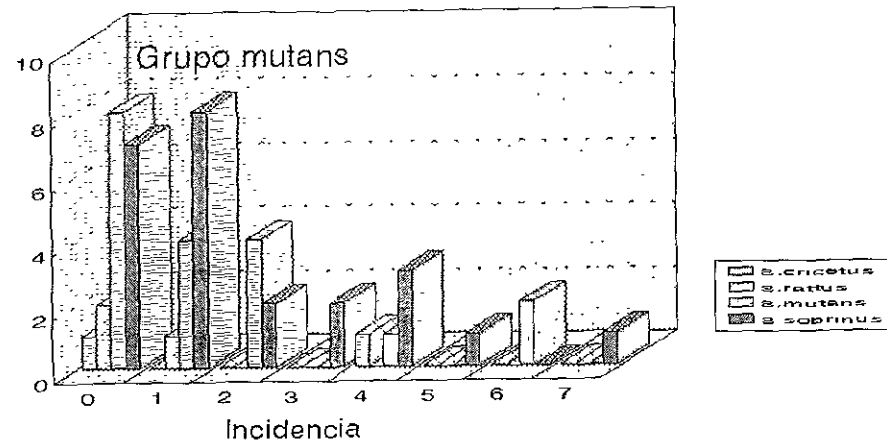
Incidencia	Streptococos						
	Grupo mutans				Grupo no cariogenico		
	<i>S. cricetus</i>	<i>S. rattus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. sanguis</i>
0	1	2	8	7	1	2	3
1		1	4	8		1	2
2			4	2	1		
3			-	2		1	1
4	1		1	3			
5			-	1			
6			2	-			
7			-	1			
Total	2	3	19	24	2	4	6
%	3.3	5.0	31.7	40	3.3	6.7	10.0

$\chi^2 = -.27584$ P 0.9577

$R^2 = 0.032$

$r_k = 0.7993$ P < 0.1093

GRAFICA 27
 INCIDENCIA Y GRUPO CARIOTIPICO DE LOS NIÑOS.



3. Conformación de conglomerados. Como ha quedado explicitado en los resultados anteriormente descritos, al comparar los valores de una variable con los valores de otra, se obtiene una asociación y/o dependencia univariada o de causalidad, la cual no provee todas los posibles mecanismos que son necesarios para establecer el comportamiento de un grupo de elementos que indudablemente interactúan, no solamente entre grupos de variables, sino en forma concomitante con la variable estudiada.

Por lo cual, se decidió optar por una nueva propuesta metodológica que consiste en formar conglomerados a partir de los grupos de variables que juegan un papel semejante: independientes, dependientes, confusoras o modificadoras, utilizando una manera de formar agrupaciones directas con un análisis de conglomerados jerárquico, con distancia de Ward.

Cuando se pretende caracterizar a los conglomerados, hay que concebir que a esta agrupación de variables las podemos interpretar como tipologías, ya que agrupan niños con valores parecidos de las variables con los que se construyen. Ahora bien, para esto se analizó la distribución de las variables en los conglomerados, con la finalidad de determinar las variables que los caracterizaban como tipologías.

Con el uso del análisis de conglomerados, se formaron varios grupos de casos y se exploró diferentes números de tipologías, específicamente se utilizó el no traslape de los grupos, a través de calcular los intervalos de confianza de las medias al 95% de confianza, que en nuestro caso, permitió determinar tres tipologías para riesgo y tres tipologías para morbilidad (de las 12 propuestas inicialmente por el modelo).

Se definieron las vertientes que caracterizaban a cada tipología. Se estableció el grado de asociación entre cada una de las variables que formaron las tipologías y entre estas mismas con las tipologías contrarias. Esto permitió encontrar aquellas variables que no se asociaban con el resto, interpretándose en

el sentido de que esas variables: o no tienen consistencia, o que prácticamente su respuesta es azarosa. Este tipo de análisis, permitió encontrar las variables que fueron más determinantes en la formación de las tipologías, estableciéndose el nivel de significancia estadística entre las tipologías y cada una de las variables del conglomerado contrario, con estas variables significativas se generaron nuevas tipologías seleccionadas de riesgo y morbilidad.

3a. Tipologías de riesgo.

Las tipologías de riesgo se conformaron con las variables iniciales: variables independientes consideradas indicadoras de riesgo de daño posterior; 6 binomios medio inoculo (TSY20B/Sa, MSB/Sa, TSY20B/PDB, MSB/PDB Snyder/Sa y Rogosa SL/Sa) y las 10 variables dependientes de los índices iniciales de caries (ceo-d y s, CPO-D y S, ceo+CPO-D y S), componentes de los índices dientes y superficies cariadas y extraídos) después de su estandarización.

En la gráfica 28 se observa la estructura prototipo de un análisis por conglomerados.

Características de las tipologías de riesgo.

La gráfica 29 y los cuadros del 18 a 20 caracterizan las tres tipologías de riesgo. En relación con el comportamiento del proceso carioso en las tipologías de riesgo. La experiencia de caries (índices ceo+CPO) cambia conforme la tipología. La tipología 1 de bajo riesgo presenta una experiencia de caries en promedio de 1.4 dientes y 2.4 superficies afectadas. La tipología 2 presentó en promedio 5.6 dientes afectados y 7.3 superficies, caracterizándose por los más altos índices de caries en la dentición permanente y altos conteos bacterianos de *S. mutans* en PDB, por lo que se le denominó Dientes Permanentes/*S. mutans*. Así mismo esta tipología presentó, el más alto promedio de dientes y superficies cariadas.

La tipología 3 presentó un promedio de 6.8 dientes afectados y una experiencia de la enfermedad por superficie de 16.2, presentando los índices de caries más altos para la dentición temporal, y las respuestas más altas a las

pruebas de identificación bacteriana para *Lactobacillus sp.* (Rogosa SL y Snyder), por lo cual se le denominó Dientes Temporales/lactobacilos.

Estas tipologías se agruparon de la siguiente manera: tipología 1 de bajo riesgo que caracterizó a 39 niños (65%), tipología 2 Dientes Permanentes/*S. mutans* caracterizó a 10 niños (17%) y la tipología 3 Dientes Temporales/lactobacilos caracterizó a 11 niños (18%).

Asociación de las tipologías de riesgo con la cohorte.

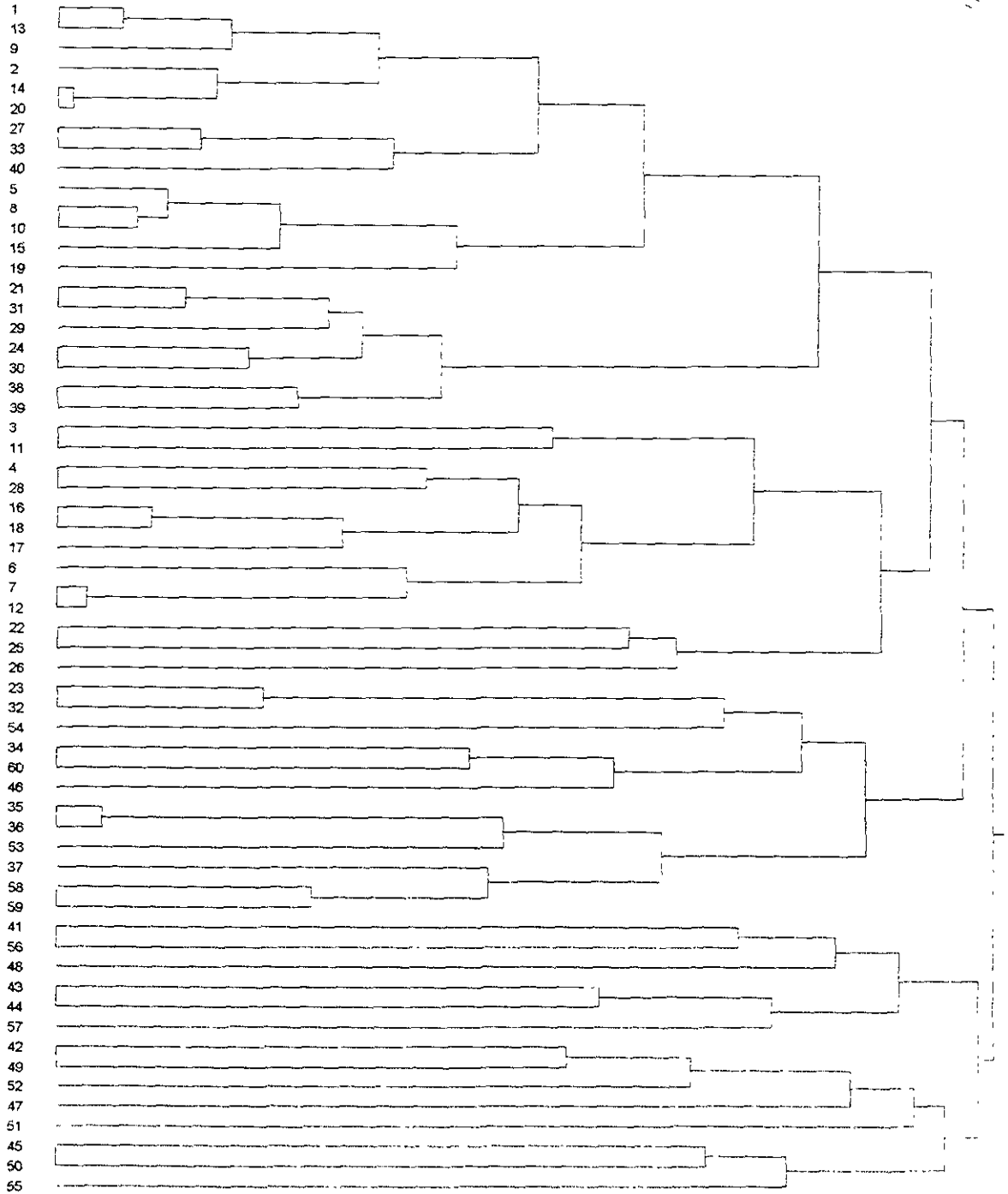
Posteriormente se asocio la información obtenida entre las tipologías de riesgo y la cohorte inicial asignada, para analizar su correspondencia. observándose que el 100% (n=20 de 20) de los niños ubicados en la tipología de riesgo bajo correspondió a los niños originalmente ubicados en la cohorte libre de caries o sanos, los niños de la cohorte con caries leve el 75% (n=15 de 20) se agrupó en tipología de riesgo Dientes Permanentes/*S. mutans*, la cohorte de CA presentó una distribución poco pronosticable. El 45% de los niños con caries alta se agrupa en la tipología de riesgo Dientes Temporales/lactobacilos., $P < 0.0001$, cuadro 21 y gráfica 30.

Asociación de las tipologías de riesgo con otras variables.

La razón de superficies afectadas por diente fue para la tipología de bajo riesgo de casi 2 superficies afectadas por diente (razón 1.80), en la tipología de riesgo Dientes Permanentes/*S. mutans*, fue de 1 superficie afectada por diente (razón 1.20) y en la tipología de riesgo Dientes Temporales/lactobacilos, fue de 4 superficies afectadas por diente enfermo. Al aplicar un ANOVA de Kruskal Wallis no se encontró que ninguno de los rangos de las medias fuera diferente ($P < 0.205$), gráfica 31

Gráfica 28

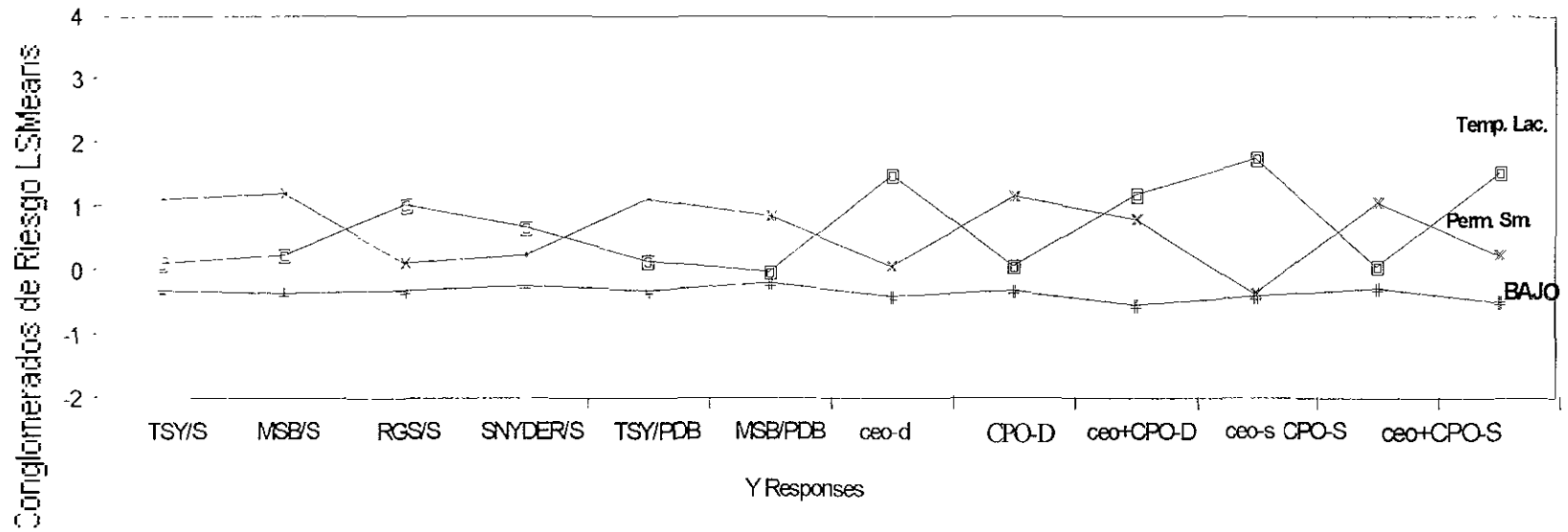
CONFORMACION DE LOS CONGLOMERADOS DE RIESGO UTILIZANDO LAS VARIABLES INDEPENDIENTES: 6 BINOMIOS MEDIO/INOCULO Y LAS 10 VARIABLES DEPENDIENTES DE LOS INDICES DE CARIES POR DIENTE/ SUPERFICIE Y COMPONENTES DE LOS INDICES



Punto de corte a 3 conglomerados

Gráfica 29

CARACTERÍSTICAS DEL COMPORTAMIENTO DE LAS VARIABLES QUE CONFORMARON LAS TRES TIPOLOGIAS DE RIESGO



Temp Lact = Tipología de riesgo Dientes Temporales/ *Lactobacillus*
 Perm Sm = Tipología de riesgo Dientes Permanentes/ *S mutans*
 Bajo = Tipología de riesgo bajo

Cuadro 18. Caracterización de las tipologías de riesgo

Tipologías Riesgo	ceo-d	CPO-D	ceo+CPO-D	ceo-s	CPO-S	ceo+CPO-S
Bajo	0.7	0.7	1.4	1.1	1.3	2.4
Dnts. Permanentes <i>S. mutans</i>	1.9	3.7	5.6	1.2	6.1	7.3
Dnts. Temporales <i>Lactobacillus</i>	5.4	1.5	6.8	13.7	2.6	16.2
Valor de F	32.530	11.359	40.696	74.048	9.789	47.049
Significancia	0.000	0.001	0.000	0.000	0.003	0.000

Cuadro 19. Caracterización de las tipologías de riesgo en relación con el promedio de los componentes de los índices

Tipologías Riesgo	Dientes Obturados	Dientes Cariados	Dientes Extraídos	Sup. Obturadas	Sup. Cariadas
Bajo	-	1.3	0.1	-	2.2
Dnts. Permanentes	-	5.6	-	-	7.3
<i>S. mutans</i>					
Dnts. Temporales	-	6.5	0.3	-	16.0
<i>Lactobacillus</i>					
Valor de F	-	38.078	1.778	-	47.049
Significancia	-	0.000	0.173	-	0.000

Cuadro 20. Caracterización de las tipologías de riesgo con relación a las variables estandarizadas de UFC en los medios de cultivo

Tipologías de Riesgo	Binomio medio/inoculo				
	Saliva		Placa dentobacteriana		Saliva
	TSY20B	MSB	TSY20B	MSB	Rogosa SI.
Bajo	-0.31	-0.38	-0.33	-0.21	-0.31
Dnts Permanentes <i>S mutans</i>	1.09	1.19	1.11	0.83	0.10
Dnts Temporales <i>Lactobacillus</i>	0.10	0.25	0.17	-0.01	1.01
Valor de F	10.404	15.001	11.417	4.924	4.319
Significancia	0.001	0.000	0.001	0.011	0.018

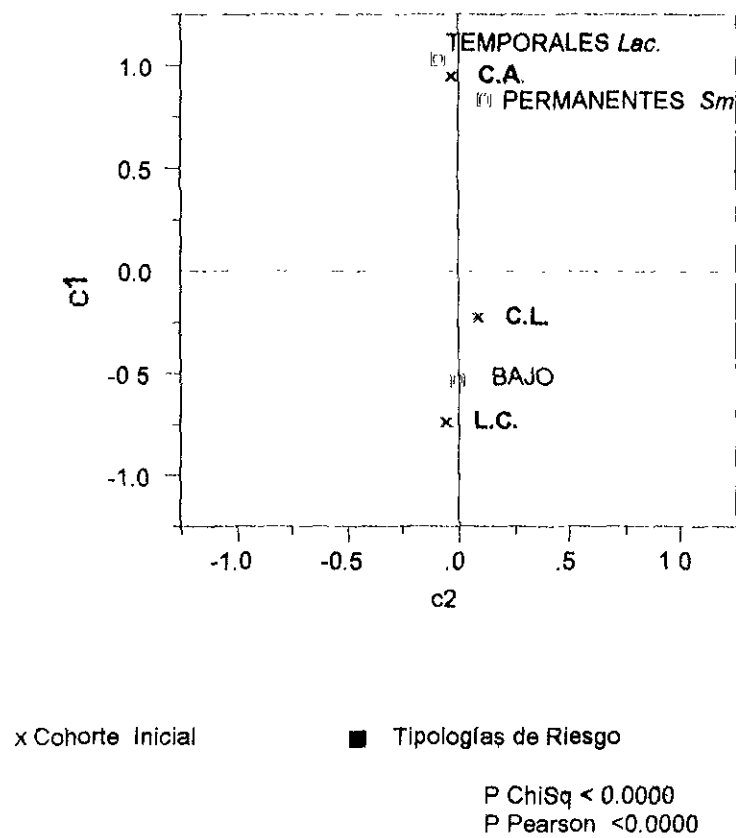
Cuadro21. Tabla de contingencia entre las cohortes asignada y las tipologías de riesgo

Cohorte	Tipologías de Riesgo							
	Bajo		D Permanentes <i>S mutans</i>		D. Temporales <i>Lactobacillus</i>		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Libre Caries	20	100	-	-	-	-	20	100
Caries Leve	15	75	3	15	2	10	20	100
Caries Alta	4	20	7	35	9	45	20	100
Total	39	65	10	17	11	18	60	100

$R^2 = 33.3$

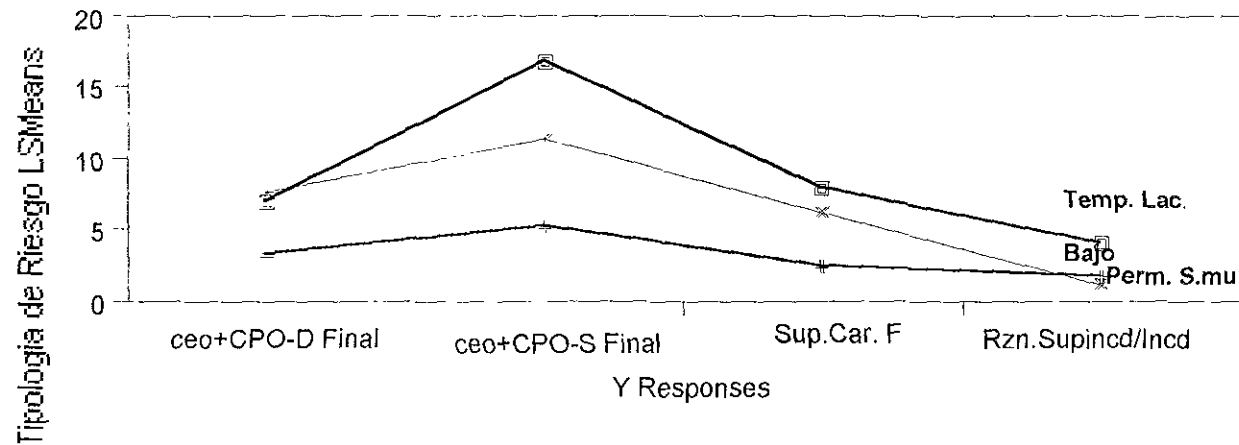
Gráfica 30

ANALISIS DE CORRESPONDENCIAS ENTRE LA COHORTE INICIAL Y LAS TIPOLOGIAS DE RIESGO



Gráfica 31

EXPERIENCIA FINAL DE CARIES POR DIENTE/SUPERFICIE Y RAZON DE DIENTES/SUPERFICIES CON INCIDENCIA SEGUN TIPOLOGIA DE RIESGO



Tipología de Riesgo	n	ceo+CPO-D Final	ceo+CPO-S Final	Sup. Car. F	Rzn. Supincd/Incd
Bajo	(39)	3.42	5.38	2.71	1.80
Permanent. S. mut.	(10)	7.83	11.50	6.33	1.20
Temporal. Lac.	(11)	7.20	17.00	8.20	4.16

P<0.205

3b. Tipologías de morbilidad.

Ahora bien a las variables finales o de salida, (variables dependientes) también se les aplicó el análisis de conglomerados, con el fin de generar un modelo que nos pudiera explicar mejor el riesgo a enfermar. Así estas tipologías de morbilidad, se conformaron con las variables: índices de caries dental final para cada dentición por diente y superficie, experiencia global final de la enfermedad (índices ceo+CPO) utilizando ambas unidades de medida, componentes de los índices cariogénicos y la incidencia del proceso carioso. Un total de 12 variables.

Características de las tipologías de morbilidad.

Las características de estas tipologías de morbilidad se describen en los cuadros del 22 al 23.

La experiencia de caries en la dentición temporal al finalizar el estudio cambia dependiendo del conglomerado o tipología. La tipología 1 o de baja morbilidad presentó índices de caries bajos.

La tipología 2 o de morbilidad media presentó los promedios más elevados en los índices de caries, en la dentición permanente (CPO-D de 5.1 y CPO-S de 8.6); el mayor promedio de dientes cariados (3.2), superficies cariadas (5.5) y mayor incidencia (2.5 dientes en promedio) por estas características se denominó tipología de dientes permanentes cariados (Dnts Permanentes Car.). Gráfica 32

El tercer conglomerado presentó los promedios de los índices mas altos en la dentición temporal (ceo-d de 5.2 y ceo-s de 12.0), mayor promedio de dientes temporales obturados (4.0) y por lo tanto mayor promedio de superficies obturadas (7.3) en esta dentición, por lo cual se denominó como tipología de dientes temporales obturados (Dnts. Temporales Obt.)

Estas tipologías se agruparon de la siguiente manera: 28 niños (47%) en la tipología de baja morbilidad, 26 niños (43%) en la tipología Dientes Permanentes Cariados y 6 niños (10%) en la tipología de Dientes Temporales Obturados.

Asociación de las tipologías de morbilidad con la cohorte.

Posteriormente se asocio la información de las tres tipologías de morbilidad con la primera organización de la población estudiada, es decir por la cohorte asignada. La tabla de contingencia (cuadro 24) entre estas variables estableció que el 80% de la cohorte de niños libres de caries o sanos (n=16 de 20) tuvo finalmente una tipología de morbilidad baja el 55% (n=11 de 20) de la cohorte de caries leve tuvo una tipología de morbilidad baja y el 40% (n=8 de 20) de esta misma cohorte presentó una tipología de Dientes Permanentes Cariados. La cohorte de caries alta inicialmente, se manifestó principalmente con una tipología de Dientes Permanente Cariados, 70% (n=14 de 20) de los niños asignados a esa cohorte. En la cohorte de C.L. no se observó una asociación tan clara en las tipologías como en las otras dos cohortes. $P < 0.0001$, Gráficas 33

Asociación de las tipologías de morbilidad con otras variables.

La razón de superficies afectadas por diente, fue para la tipología de baja morbilidad de 1 superficie afectada por diente (razón de 1.4), en la tipología de Dientes Permanente Cariados fue de 2 superficies afectadas por diente (razón 2.5) y en la tipología Dientes Temporales Obturados, fue de 1.5 superficies afectadas por diente enfermo. Al aplicar un ANOVA de Kruskal Wallis no se encontró que ninguno de los rangos de las medias fuera diferente ($P < 0.301$), gráfica 34.

Asociación de las tipologías de riesgo con las tipologías de morbilidad.

Se procedió a realizar una tabla de contingencia asociando las tipologías de riesgo con las tipologías de morbilidad, (cuadro 25 y gráfica 35). Este análisis permitió establecer que el 64% (n=25 de 39) de la tipología de bajo riesgo presentó una fuerte asociación con la tipología de morbilidad baja. El 80% (n=8 de 10) de la tipología de riesgo Dientes Permanentes/*S. mutans*, presentó una tipología de morbilidad de Dientes Permanentes Cariados, sin embargo, presenta una distribución porcentual homogénea en cada una de las otras dos tipologías.

no habiendo diferencias entre las frecuencias observadas y esperadas en estos extremos (valor de $P < 0.0000$).

El 55% ($n=6$ de 11) de la tipología de riesgo Dientes Temporales/lactobacilos, presentó una tipología de morbilidad de Dientes Temporales Obturados al finalizar el estudio, existiendo una discrepancia entre las frecuencias esperadas y observadas (1.1 a 6). Ningún caso de tipología de riesgo bajo o de tipología de riesgo de Dientes Permanentes/*S. mutans*, se ubicó en esta tipología. Información que sugiere que los extremos son los mejores predictores de morbilidad final.

Cuadro 22. Caracterización de las tipologías de morbilidad

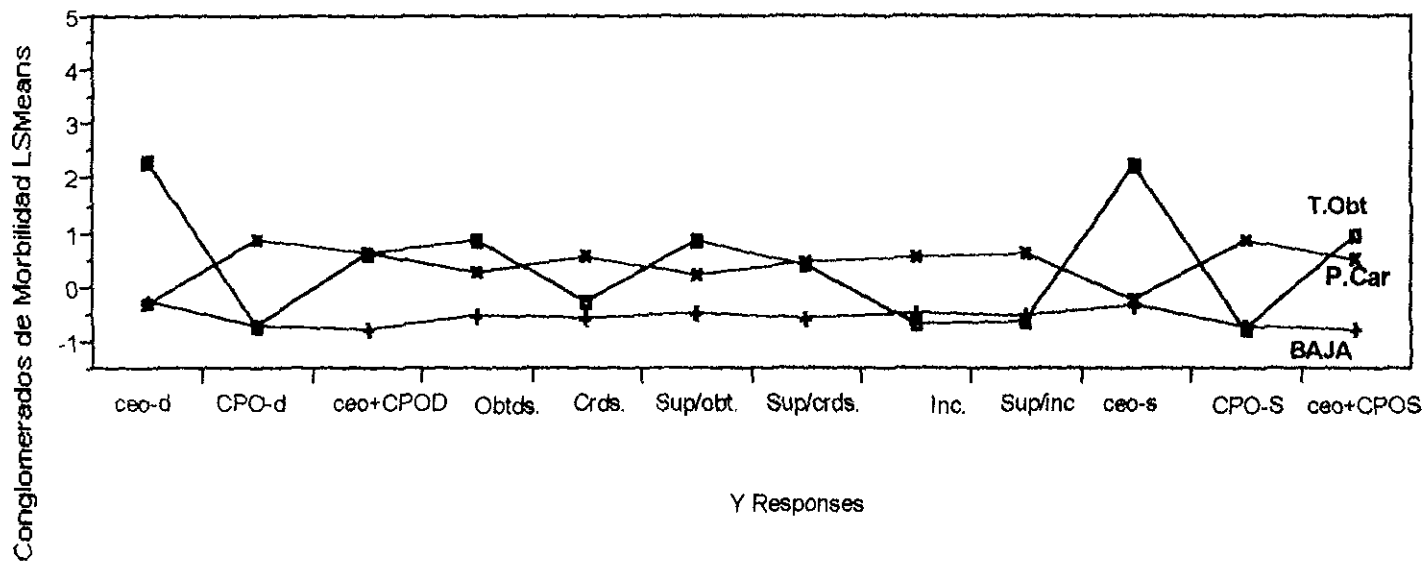
Tipologías de Morbilidad	ceo-d	CPO-D	ceo+CPO-D	ceo-s	CPO-S	ceo+CPO-S
Baja	0.7	0.6	1.3	1.1	0.8	1.9
Dnts. Permanentes Cariados	0.6	5.1	5.8	1.5	8.6	10.1
Dnts. Temporales Obturados	5.2	0.7	5.9	12.0	0.7	12.8
Valor de F	44.496	52.855	27.167	40.418	54.953	28.610
Significancia	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Cuadro 23. Caracterización de las tipologías de morbilidad en relación con el promedio de los componentes de los índices y la incidencia

Tipologías de Morbilidad	Dientes Obturados	Dientes Cariados	Incidencia	Sup. Obturadas	Sup Cariadas	Sup / Incidencia
Baja	0.4	0.9	0.6	1.0	0.9	0.9
Dnts Permanentes Cariados	2.4	3.2	2.5	4.2	5.5	4.5
Dnts Temporales Obturados	4.0	1.5	0.3	7.3	5.3	0.5
Valor de F	8.059	12.388	11.885	6.733	10.738	13.500
Significancia	0.001	0.000	0.000	0.002	0.001	0.000

Gráfica 32

CARACTERIZACION ESTANDARIZADA DE LAS VARIABLES QUE CONFORMARON LAS TRES TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD



T.Obt. = Tipología de morbilidad Temporales / Obturados
 P.Car. = Tipología de morbilidad de Permanentes/ Cariados
 Baja = Tipología baja morbilidad

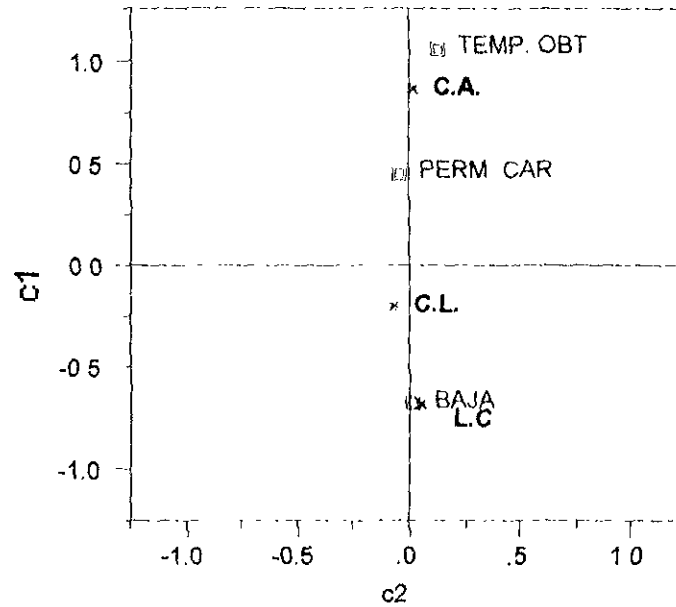
Cuadro 24. Tabla de contingencia entre las cohortes asignadas y las tipologías de morbilidad

Cohorte	Tipologías de Morbilidad							
	Baja		D Permanentes Cariados		D Temporales Obturados		Total	
	No	%	No.	%	No.	%	No.	%
Libre Caries	16	80	4	20	-	-	20	100
Caries Leve	11	55	8	40	1	5	20	100
Caries Alta	1	5	14	70	5	25	20	100
Total	28	47	26	43	6	10	60	100

$R^2 = 26.5$

Gráfica 33

ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE LA COHORTE INICIAL Y LAS TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD



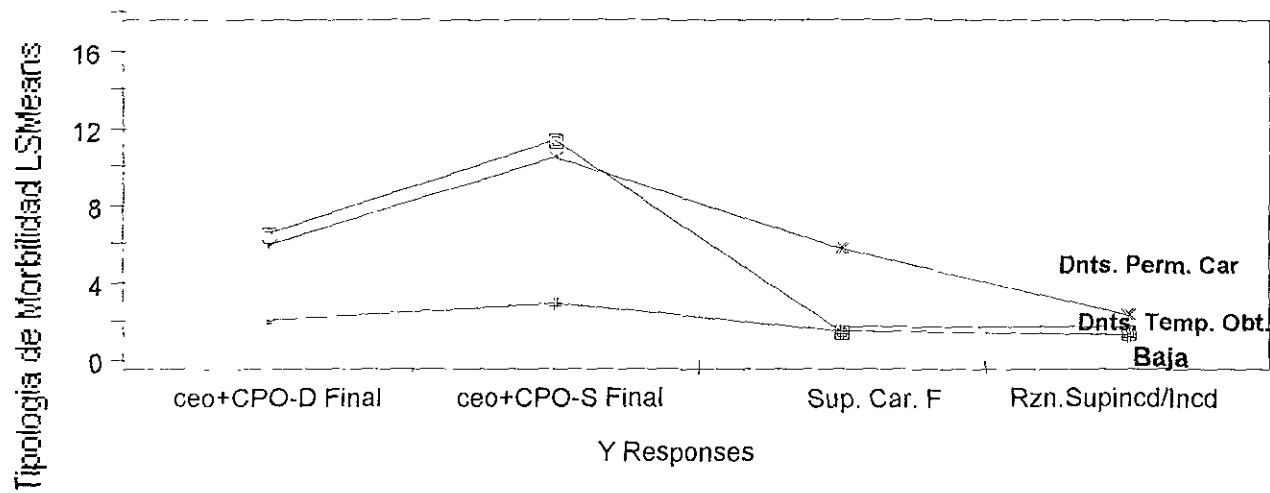
x Cohorte

□ Tipología de Morbilidad

P ChiSq <0.0001
P Pearson <0.001

Gráfica 34

EXPERIENCIA FINAL DE CARIES POR DIENTE/SUPERFICIE Y RAZON DE DIENTES/SUPERFICIES CON INCIDENCIA SEGUN TIPOLOGIA DE MORBILIDAD



Tipología de Morbilidad	n	ceo+CPO-D Final	ceo+CPO-S Final	Sup. Car. F	Razon
Baja	(28)	2.17	3.08	1.50	1.37
Dnts. Permanen. Car.	(26)	6.00	10.62	5.86	2.46
Dnts. Temp. Obt.	(6)	6.50	11.50	1.50	1.50

P<0.301

Cuadro 25. Tabla de contingencia entre las tipologías de morbilidad y las tipologías de riesgo

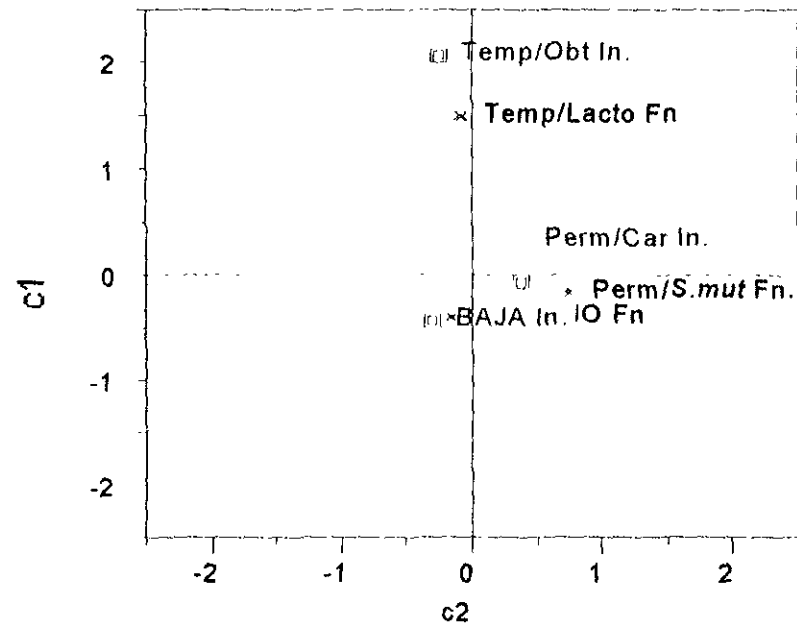
Tipologías de Morbilidad	Tipologías de Riesgo						Total
	Bajo		D Permanentes <i>S. mutans</i>		D Temporales <i>Lactobacillus</i>		
	No.	%	No.	%	No.	%	
Baja (Frec. Observada)	25	64	2	20	1	9	28
Frecuencia Esperada	18.2		4.7				
Valor Chi² en la celda	2.6		1.5				
Dnts Permanentes Cariados (Frec. Obs.)	14	36	8	80	4	36	26
Frecuencia Esperada	16.9		4.3		4.8		
Valor Chi² en la celda	0.5		3.1		0.1		
Dnts Temporales Obturados	-		-		5	55	6
Frecuencia Esperada	3.9		1.0		1.1		
Valor Chi² en la celda	3.9		1.0		21.8		
Total	39	100	10	100	11	100	60

P<0.0000

negritas = Frecuencia esperada
negrilla + cursiva = valor de Chi² para la celda

Gráfica 35

ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE LAS TIPOLOGIAS DE RIESGO Y LAS TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD



x Tipología de Riesgo [] Tipología de Morbilidad

P<0.0001

4. Nuevas Tipologías.

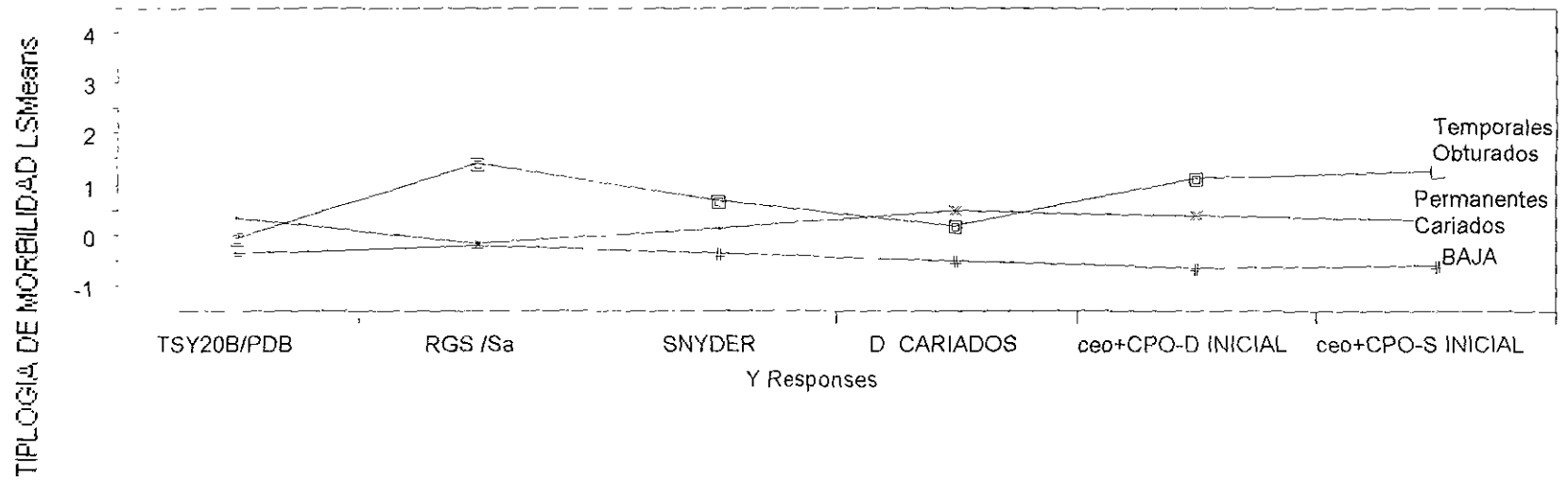
Para profundizar más en el conocimiento del perfil de riesgo y en el perfil de morbilidad, la información se analizó nuevamente tratando de establecer dentro del total de variables, cuales habían sido aquellas que presentaban significancia estadística con estas tipologías, eliminando aquellas variables que no tenían consistencia o que su respuesta había sido azarosa.

Se analizó la información de las tipologías de morbilidad contra las 15 variables que habían constituido las tipologías de riesgo a través de ANOVA, estableciéndose que aquellas variables iniciales que tenían significancia estadística con las tipologías de morbilidad fueron: el número total de dientes afectados iniciales (ceo+CPO-D) $P < 0.0000$, el número total de superficies afectadas iniciales (ceo+CPO-S) $P < 0.0000$, el número de dientes cariados iniciales $P < 0.0009$ el binomio TSY20B/PDB $P < 0.0308$, el binomio Rogosa SL/S $P < 0.0004$ y la prueba de actividad cariogénica de Snyder $P < 0.0182$. Gráfica 36

El mismo procedimiento se aplicó a las tipologías de riesgo, se asocio la información a través de un ANOVA obteniéndose que aquellas variables de las 12 finales que tenían significancia estadística con estas tipologías de riesgo fueron: la cantidad de dientes afectados al finalizar el estudio (ceo+CPO-D) $P < 0.0001$, las superficies totales afectadas (ceo+CPO-S) $P < 0.0000$ y el número total de dientes cariados $P < 0.0019$ Gráfica 37.

Gráfica 36

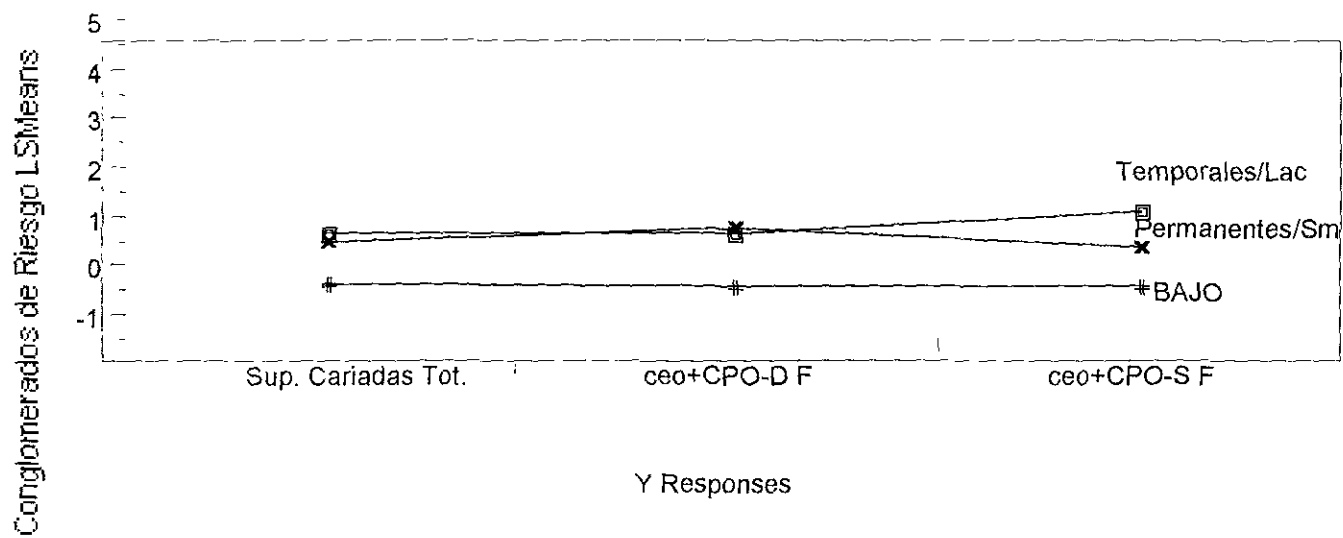
VARIABLES INICIALES QUE OBTUVIERON DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS CUANDO SE ASOCIARON CON LAS TIPOLOGIAS DE MORBILIDAD



P<0 0001

Gráfica 37

VARIABLES FINALES QUE OBTUVIERON DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS CUANDO SE ASOCIARON CON LAS TIPOLOGIAS DE RIESGO



P < 0.001

4a. Tipologías de riesgo y morbilidad con selección de variables.

Con las variables iniciales que fueron significativas en su asociación con las tipologías de morbilidad: variables independientes TSY20B/PDB $P < 0.0308$, Rogosa/Sa $P < 0.0004$, Snyder/Sa $P < 0.0182$ y las variables dependientes ceo+CPO-D inicial $P < 0.0000$, ceo+CPO-S inicial $P < 0.0000$ y el componente de dientes cariados iniciales $P < 0.0000$, se generaron nuevamente tres conglomerados de riesgo, los cuales se denominaran de ahora en adelante como tipologías seleccionadas de riesgo.

Las tipologías seleccionadas de morbilidad se construyeron con las variables estadísticamente significativas en su asociación con las tipologías de riesgo: ceo+CPO-D final $P < 0.0001$, ceo+CPO-S final $P < 0.0000$ y dientes cariados finales $P < 0.0019$.

Caracterización de las tipologías seleccionadas.

En el cuadro/gráfica 38 se describen las tipologías seleccionadas de riesgo. La tipología seleccionada que se denominó como de bajo riesgo se caracterizó inicialmente por presentar 1 superficie afectada, la tipología seleccionada de mediano riesgo presentó casi 3 dientes afectados (2.63 en promedio) con casi 5 superficies afectadas (4.63 en promedio).

La tipología seleccionada de alto riesgo presentó en promedio 7.4 dientes afectados, con un índice ceo+CPO-S de 14.5. Existiendo diferencias estadísticamente significativas a través de MANOVA entre la tipología seleccionada de riesgo y los índices de caries por diente y superficie, $P < 0.0000$.

Asociación de las tipologías seleccionadas de riesgo con otras variables.

La tipología seleccionada de mediano riesgo presentó una razón de 2.2 superficies afectadas por diente; de las cuales el 56% fueron lesiones de caries sin

tratar. La tipología seleccionada de alto riesgo tuvo una razón de 2.7 lesiones por diente, afectando más a la dentición temporal. El 50% de las lesiones fueron de caries activas o sin tratamiento. Al aplicar un ANOVA de Kruskal Wallis no se pudo establecer que ninguno de los rangos de las medias fuera diferente. $P < 0.301$. Gráfica 39

Asociación de las tipologías seleccionadas de riesgo con las tipologías seleccionadas de morbilidad.

Cuando estas tipologías se caracterizaron con las tipologías seleccionadas de morbilidad se estableció que la experiencia final de caries por tipología de riesgo seleccionada fue en promedio para la tipología de bajo riesgo de 1.9 dientes afectados, con 2.8 superficies afectadas en promedio, de las cuales 1.3 en superficies en promedio fueron cariadas. Cuadros/gráficas 40 y 41

En la tipología de mediano riesgo se presentaron en promedio 3 dientes afectados con 5.1 superficies afectadas y en promedio 2.5 de estas superficies fueron de caries activas.

En la tipología seleccionada de alto riesgo se obtuvo un promedio de 7 dientes afectados, con 14 superficies afectadas, de las cuales más de la mitad fueron lesiones cariosas activas (7.4), así como el mayor promedio de dientes/superficies obturadas.

Estas tipologías seleccionadas de riesgo se caracterizaron por presentar índices más altos de caries en la dentición permanente. Cuando se asoció la información de tipología seleccionada de riesgo contra los índices de caries por diente y superficie, a través de MANOVA se obtuvo que los promedios de cada tipología eran diferentes. $P < 0.001$.

Asociación de las tipologías seleccionadas con el conteo de UFC en los binomios medio/inoculo.

En el cuadro/gráfica 42 se aprecia la distribución del promedio de las UFC en los binomios medio/inoculo cuando se asocia la información con las tipologías seleccionadas de riesgo. Observándose que los extremos riesgo bajo y riesgo

alto fueron lo que presentan los promedios que son estadísticamente diferentes. Cuando se realizó un MANOVA se determinó que las medias de las UFC son diferentes en cada medio/inoculo dependiendo de la tipología de riesgo seleccionado con una probabilidad de $P < 0.0025$.

Cuando se analizo el comportamiento del número de UFC en los binomios medios/inóculos contra las tipologías seleccionadas de morbilidad generadas, se observó que el promedio de UFC era más homogéneo el número de bacterias aumentaba conforme las tipologías seleccionadas de morbilidad. las pruebas multivariadas dan valores de P mayores de $P < 0.02$. para los binomios medio/inoculo. Cuadro/gráfica 43

La distribución de la cantidad de UFC en las tipologías seleccionadas de riesgo sugiere que existen diferencias entre los promedios de UFC de los niños con tipología seleccionada de riesgo bajo y tipología seleccionada de riesgo alto.

Caracterización de las tipologías seleccionadas de riesgo a través de intervalos de confianza

Al calcular un riesgo alfa bilateral al 95% de confianza de la información obtenida se determino que según la tipología seleccionada de riesgo, este se comportaría de la siguiente manera:

El bajo riesgo será aquel que se encuentre sano en ambas denticiones existiendo cierta probabilidad de que se presente una sola superficie afectada con caries incipiente, que presente hasta 2,000 UFC($\times 10^3$) de *S. mutans* en muestreo de PDB, un conteo de *Lactobacillus sp* $> 10^3$ y una acidez ligera en la saliva

El mediano riesgo será aquel individuo que presente un mínimo de 2 y como máximo 4 dientes afectados, la información sugiere que de estos dientes el 60% pueden pertenecer a la dentición temporal y el otro 40% a la dentición permanente. pudiendo presentar bajos conteos de *S. mutans* pero conteos más altos de *Lactobacillus sp* $> 10^4$ que el grupo anterior y una acidez salival entre ligera y moderada. La diferencia con el grupo anterior estriba, en que estos niños ya han experimentado el proceso carioso.

El alto riesgo será aquel que presente caries en el 55% de los dientes temporales, además de 3 o más dientes permanentes con caries y el 50% de estos dientes afectados presentarán lesiones cariosas activas, conteos microbianos de *S. mutans* mayores o iguales a 10^6 UFC, *Lactobacillus sp* entre 10^4 y 10^5 y una actividad cariogénica entre moderada y marcada.

Asociación de las tipologías seleccionadas de riesgo y morbilidad.

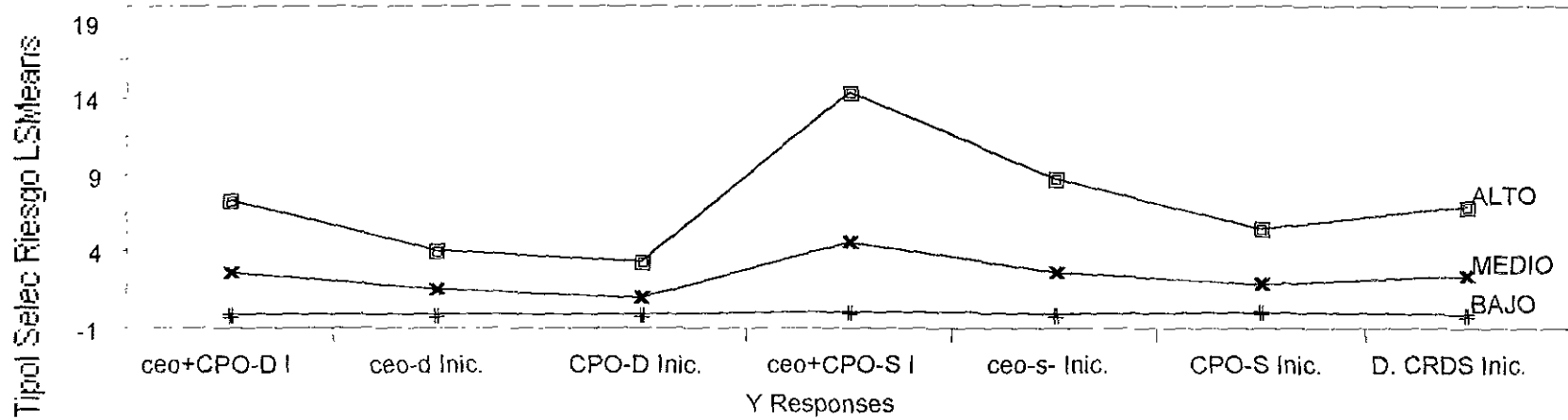
Se aplicó un análisis de contingencia entre estas nuevas tipologías de riesgo que se asociaron con las tipologías seleccionadas de morbilidad habiéndose obtenido una significación estadística de $P=0.000000$ y un coeficiente de determinación del 36.4%, la correspondencia del modelo se observa en el cuadro 26 y la gráfica 44.

El 94% de los niños identificados de bajo riesgo, a través de las tipologías seleccionadas de riesgo tendrán una baja morbilidad. La tipología seleccionada de mediano riesgo tendrá una mayor probabilidad de desarrollar una morbilidad media (.20), pero también existe la probabilidad del .14 de que desarrolle una alta morbilidad y su menor probabilidad (.6) será de que desarrolle baja morbilidad. La tipología seleccionada de alto riesgo tendrá una probabilidad del .86 de desarrollar una alta morbilidad, el .16 probablemente desarrolle una morbilidad media y ninguna probabilidad de no desarrollar nuevos episodios de la enfermedad.

En los cuadros 27, 28 y 29 se describen los intervalos de confianza de los datos para las tipologías seleccionadas de morbilidad.

Gráfica 38

CARACTERIZACION DE LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE RIESGO CON LAS VARIABLES INICIALES DE LOS INDICES DE CARIES

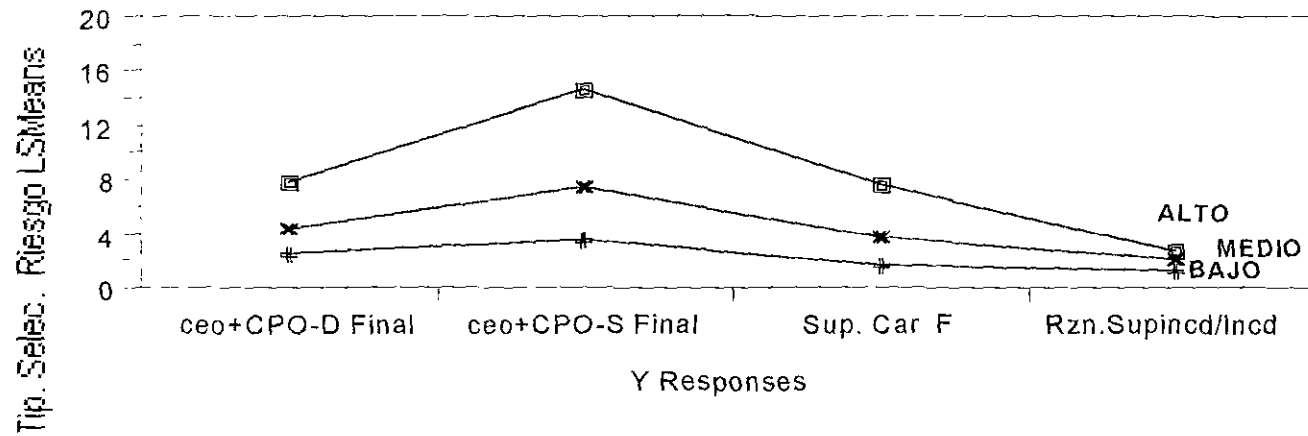


Tipol Selec Riesgo	ceo+CPO-D I	ceo-d Inicial	CPO-D Inicial	ceo+CPO-S I	ceo-s- Inicial	CPO-S Inicial	D CRDS Inicio
BAJO	0.06	0.00	0.06	0.19	0.00	0.19	0.06
MEDIO	2.63	1.57	1.07	4.63	2.70	1.93	2.53
MUY ALTO	7.43	4.07	3.36	14.50	8.93	5.64	7.14

P<0.000

Gráfica 39

EXPERIENCIA FINAL DE CARIES POR DIENTE/SUPERFICIE Y RAZON DE DIENTES/SUPERFICIES CON INCIDENCIA SEGUN TIPOLOGIA CON SELECCIÓN DE VARIABLES

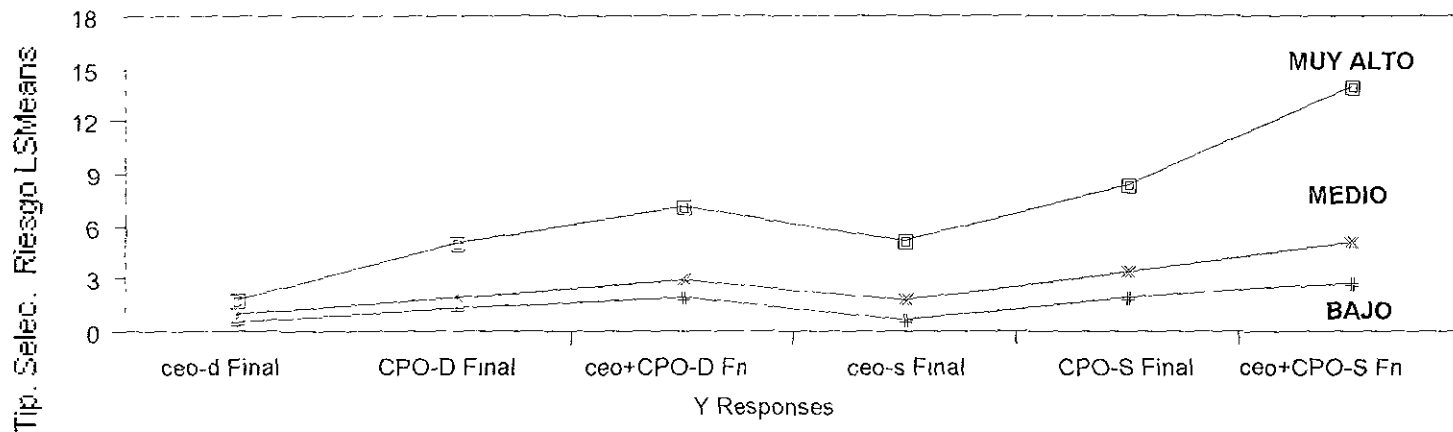


Tip. Seleccion. Riesgo	n	ceo+CPO-D Final	ceo+CPO-S Final	Sup. Car. F	Razon
BAJO	(16)	2.58	3.67	1.75	1.33
MEDIO	(30)	4.50	7.57	3.79	2.18
ALTO	(14)	7.89	14.78	7.78	2.74

P<0.301

Cuadro/Gráfica 40

COMPORTAMIENTO DE LOS PROMEDIOS FINALES DEL INDICE DE CARIES POR TIPOLOGIA SELELCCIONADA DE RIESGO

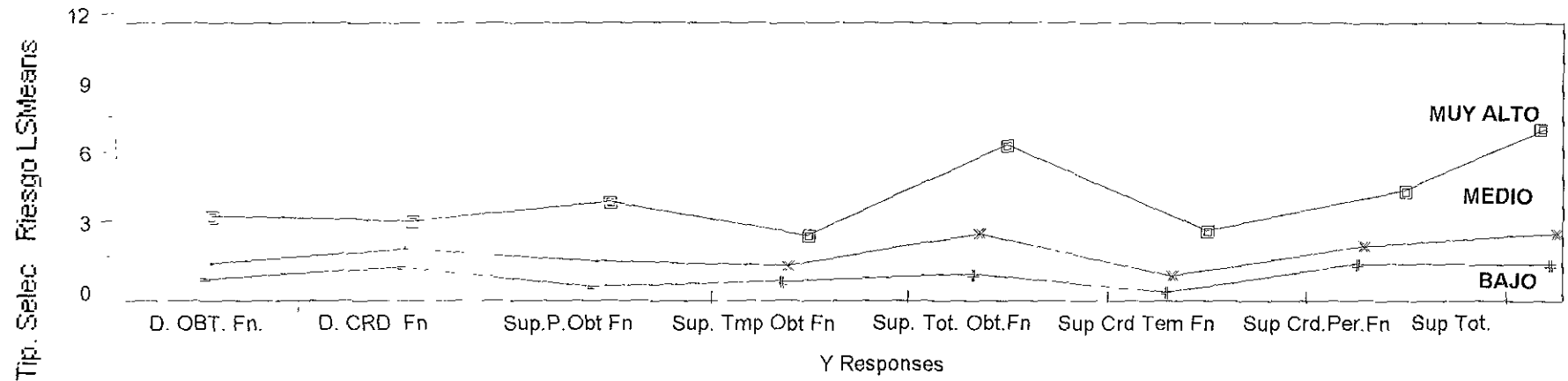


Tip. Selec. Riesgo	ceo-d Final	CPO-D Final	ceo+CPOD Final	ceo-s F.	CPO-S F	ceo+CPO-S Final
BAJO	0.5	1.4	1.9	0.8	2.0	2.8
MEDIO	1.0	2.0	3.0	1.9	3.5	5.1
MUY ALTO	1.9	5.0	7.2	5.3	8.4	14.0

P<0.001

Gráfica 41

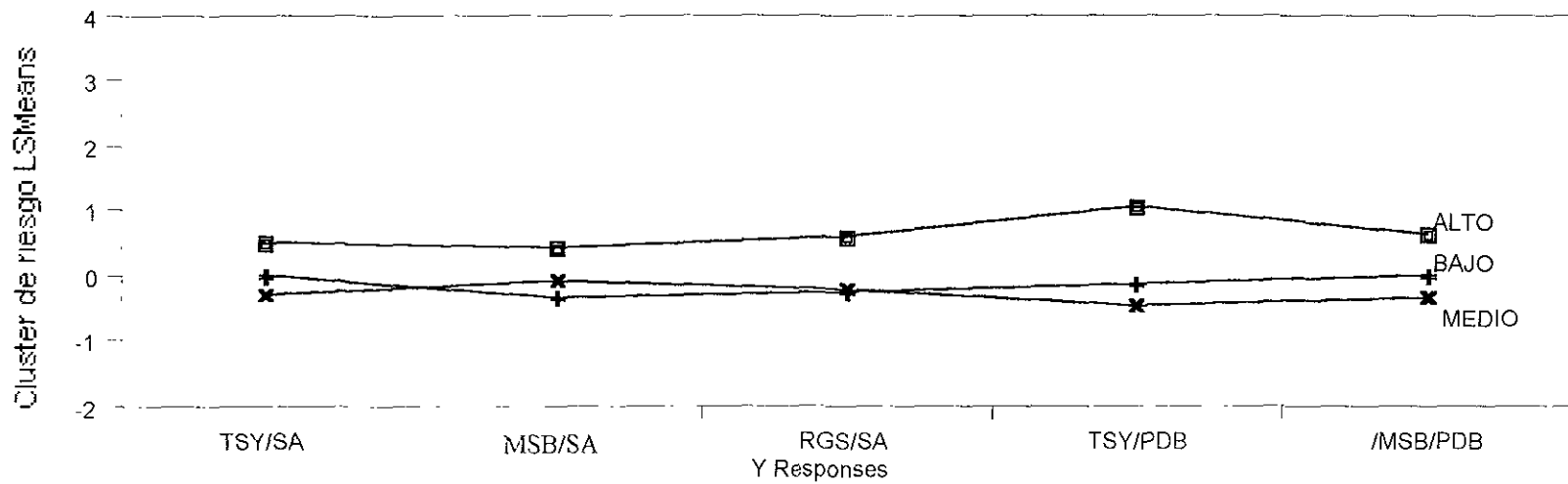
PROMEDIOS FINALES DE LOS COMPONENTES DE LOS INDICES DE CARIES POR DIENTE Y SUPERFICIE EN LAS TIPOLOGÍAS SELECCIONADAS DE RIESGO



Tip. Selec. Riesgo	D.Ob.F	D.Cr.F	S.P.O.F.	S.T.Ob.F.	S.Ob.T	S. Cr.T. F	S.Cr. P.F.	S.Cr.Tot. F.
BAJO	0.7	1.3	0.4	0.6	0.9	0.2	1.3	1.3
MEDIO	1.2	1.8	1.4	1.1	2.5	0.7	2.0	2.5
MUY ALTO	3.4	3.1	4.1	2.5	6.6	2.8	4.6	7.4

Cuadro/Gráfica 42

CARACTERIZACION DE CADA UNO DE LOS BINOMIOS MEDIO/INOCULO VS LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE RIESGO

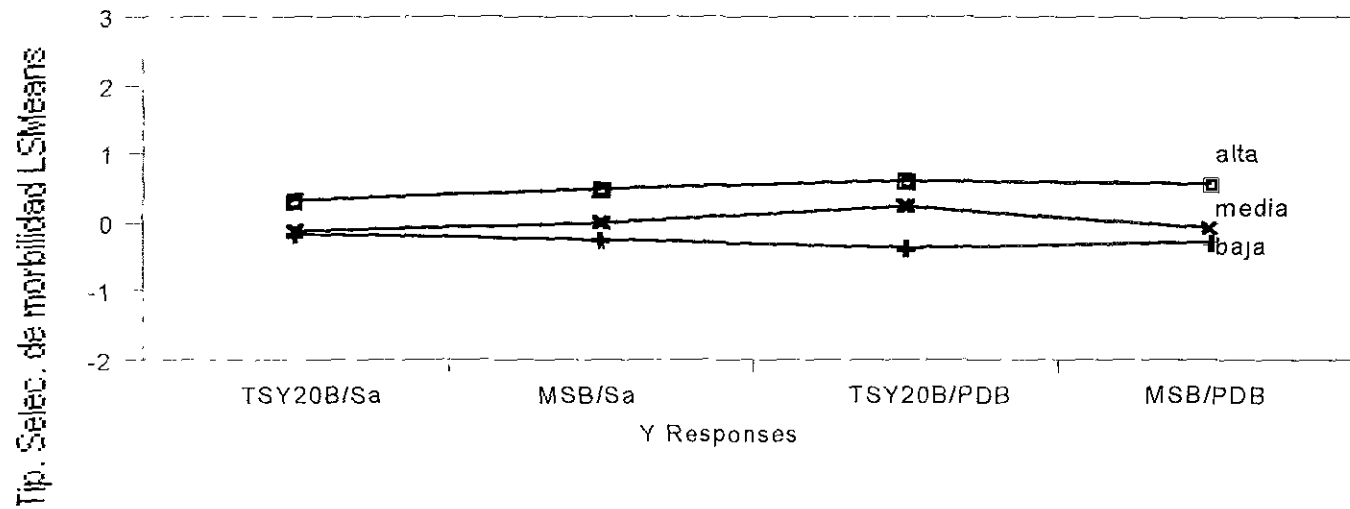


Tipología selec. de riesgo	TSYS/SA	MSB/SA	RGS/SA	TSY/PDB	MSB/PDB
BAJO	503.31	91.50	9.75	1015.00	1424.25
MEDIO	385.73	129.60	11.20	203.47	477.60
MUY ALTO	702.28	204.00	38.57	3935.33	3324.86

P<0.0025

Cuadro/Gráfica 43

ASOCIACION DE CADA UNO DE LOS BINOMIOS MEDIO/INOCULO EN CADA UNA DE LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE MORBILIDAD



TIPOLOGIA SELECCIONADA DE MORBI	TSY20B/Sa	MSB/Sa	TSY20B/PDB	MSB/PDB
baja	435.79	99.29	408.71	645.65
media	449.78	138.22	1860.22	1188.22
alta	623.06	211.06	2753.06	3001.06

P<0.0013

Cuadro 26. Asociación entre las tipologías seleccionadas de morbilidad y las tipologías seleccionadas de riesgo

Tipologías Seleccionadas de Morbilidad	Tipologías Seleccionadas de Riesgo						Total No.
	Bajo		Medio		Alto		
	No	%	No	%	No	%	
Baja (Frecuencias Obs)	15	94	19	63	-	-	34
Frecuencias Esperadas	9.1		17.0		7.9		
<i>Valor Chi² en la celda</i>	3.8		0.2		7.9		
Media	1	6	6	20	2	14	9
Frecuencias Esperadas	2.4		4.5		2.1		
<i>Valor Chi² en la celda</i>	0.8		0.5		0.1		
Alta	-	-	4	17	12	86	17
Frecuencias Esperadas	4.5		8.5		4.0		
<i>Valor Chi² en la celda</i>	4.5		1.4		16.2		
Total	16	100	30	100	14	100	60

P<0 0000

negritas = Frecuencia esperada

negrilla + cursiva = valor de Chi² para la celda

Cuadro 27. Caracterización de la tipología seleccionada de riesgo cariogénico

Riesgo Seleccinado	Exposición previa al proceso cariogénico		
	Dientes Afectados	Superficies Afectadas	Dientes Cariados
Bajo Riesgo	0	0	0
Mediano Riesgo	1 – 3	3 – 6	1 – 3
Alto Riesgo	6 – 8	10 – 18	6 – 8
R ²	0.74	0.60	0.74
Valor de P	0.0000	0.0000	0.0000

*Calculado a partir de intervalos de confianza α bilaterales al 95% de confianza

Cuadro 28. Caracterización de la tipología seleccionada de riesgo bacteriano

Riesgo Seleccionado	Respuesta a medios bacteriológicos		
	TSY20B/PDB *	Rogosa SL/Saliva	Snyder
Bajo Riesgo	N.C.-2,000 UFC (10 ³)	N.C - 20 UFC (10 ³)	1 - 2
Mediano Riesgo	100 - 500 UFC (10 ³)	7.3 - 18.9 UFC (10 ³)	2 - 3
Alto Riesgo	2,000 - 6,000 (10 ³)	8.67 - 68.5 UFC (10 ³)	3 - 4
R ²	0.40	0.12	0.55
Valor de P	0.0000	0.0286	0.0000

*Calculado a partir de intervalos de confianza α bilaterales al 95% de confianza

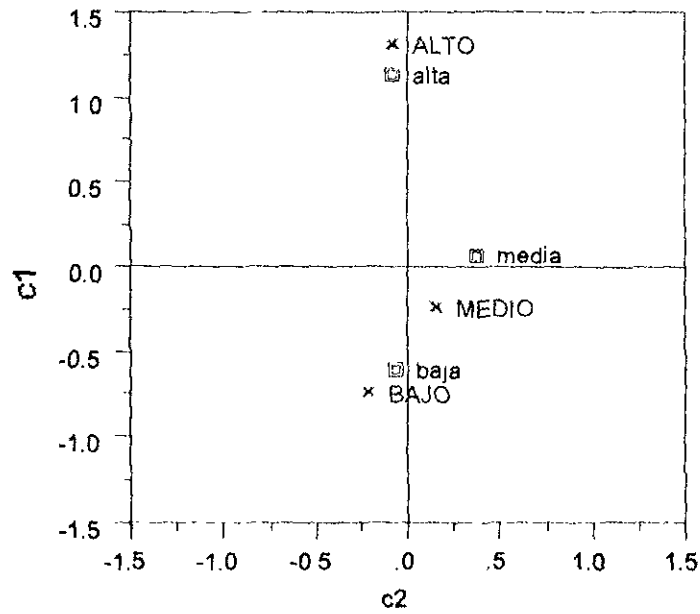
Cuadro 29. Caracterización de la tipología seleccionada de morbilidad

Riesgo Seleccionado	Exposición final al proceso cariogénico*		
	Dientes Afectados	Superficies Afectadas	Dientes Cariados
Bajo Riesgo	1 – 3	1 – 5	1 – 2
Mediano Riesgo	2 – 4	3 – 7	1 – 4
Alto Riesgo	5 – 9	11 – 17	4 – 5
R ²	0.37	0.46	0.12
Valor de P	0.0000	0.0000	0.0292

*Calculado a partir de intervalos de confianza α bilaterales al 95% de confianza

Gráfica 44

ANALISIS DE CORRESPONDENCIA ENTRE LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE RIESGO Y LAS TIPOLOGIAS SELECCIONADAS DE MORBILIDAD



x Tipología Seleccionada de Riesgo □ Tipología Seleccionada de Morbilidad

R²= 36.4%
P<0.0000

10. DISCUSIÓN

En el mundo moderno la globalización de las economías ha impactado tanto las vías, como las formas en las comunicaciones, haciendo que la odontología como cualquier profesión no se pueda abstraer del avance de la ciencia que está determinando las tendencias tanto del ejercicio de la práctica odontológica, como de su conceptualización.

El ejercicio de la odontología en nuestro país se encuentra con un retraso aproximadamente de 20 años, la práctica clínica se sigue rigiendo por el antiguo paradigma de la rehabilitación, situación que en los países desarrollados se considera obsoleta. El avance de la ciencia y la tecnología parecería que no ha causado ningún impacto en el modelo de atención predominante, así como tampoco en el proceso de enseñanza aprendizaje. Hasta la actualidad los planes de estudio no han incorporado nuevas tendencias diagnósticas o tratamientos que por la tecnología que utilizan implica altos costos para su implementación. En este sentido tampoco se incorporan en los marcos teórico-conceptuales de los diseños curriculares. Las escuelas y facultades de Odontología siguen educando a sus alumnos bajo viejos esquemas que no permiten generar nuevas expectativas para el ejercicio profesional.

En la actualidad se considera que la experiencia de caries a escala individual depende de la interacción de los ahora considerados factores cariogénicos (microbiológicos y alimentarios) con aquel grupo de factores que afectan la resistencia del esmalte a la disolución ácida. En este sentido, se ha demostrado que si los factores cariogénicos disminuyen en relación con la resistencia del huésped la incidencia de caries puede ser menor.⁹³

De acuerdo con los resultados de este estudio, la asociación entre la incidencia de caries y las variables microbiológicas analizadas puede ir desde ligera

en algunos casos, hasta moderada en su coeficiente de correlación con otras a escala individual.

Desarrollo del proceso carioso.

En el presente estudio se estableció un índice CPO-D inicial para el grupo de 1.3+/-2.1, una tasa de incidencia del 60% y después de 18 meses el CPO-D se incrementó a 2.5+/-2.8 con una incidencia en promedio de 1.4+/-1.8 dientes afectados. La incidencia de caries fue mayor que la reportada en estudios previos,⁹⁴⁻¹⁰⁰ lo cual posiblemente este influido por la estrategia de muestreo utilizada en la selección del universo de trabajo, estos niños desarrollaron entre una y 7 lesiones, aumento en número de dientes ligeramente mayor al reportado para el país.^{94,96} En los países desarrollados se reporta que el porcentaje de incidencia de caries, oscila entre el 25 y el 32%, porcentajes menores que el establecido en el presente estudio.¹⁰¹⁻¹⁰⁴

Al comparar el desarrollo de nuevos episodios de caries entre las cohortes que se generaron inicialmente como factores de riesgo, se estableció una tasa de incidencia del 0.58 para los niños que ya habían tenido caries (cohortes CL y CA) y del 0.60 para el grupo de niños diagnosticados inicialmente como sanos (no expuestos), calculándose un riesgo relativo del 0.96 y un riesgo atribuible del 0.03. Estimando que no existieron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de la tasa de incidencia de caries entre los grupos, $P < 0.853$.

El incremento neto de caries por sujeto fue de 2.5 superficies cariadas/obturadas por individuo, siendo este mayor que el reportado para otras poblaciones que indican un incremento para países desarrollados de 1.5 superficies por niño.^{101,102,103}

Sin embargo, la razón de superficies afectadas por diente fue diferente dependiendo de la cohorte 1.28 superficies por diente en promedio para la cohorte LC, de 1.57 para la cohorte de CL y de 3.3 para la cohorte de CA. Calculándose que el 11% de las variaciones en las superficies afectadas pueden estar relacionadas con la exposición previa de la enfermedad.

Las evidencias científicas establecen que las lesiones de caries se presentan con mayor frecuencia en las superficies oclusales de molares,¹⁰⁵ en este sentido el 70% de las nuevas lesiones registradas durante la investigación se desarrollaron en estas superficies, siendo éste porcentaje similar al reportado por otros investigadores.¹⁰¹

En cuanto al análisis de los componentes del índice de caries (dientes cariados, perdidos y obturados) al inicio del estudio se observó que predominaban los dientes cariados ($c+C = 2.95$ de un promedio $ceo+CPO-D$ de 3.1), lo que refleja la baja cobertura de servicio que tiene la comunidad estudiada.¹⁰⁶ Sin embargo, al finalizar la investigación el índice de dientes cariados disminuyó a 2.0 dientes $CPO+ceo$ en promedio, por un lado debido a la exfoliación de dientes temporales (componente c del índice) y por el otro lado se registró un promedio de dientes obturados de 1.6, indicador que refleja la disposición de asistir a algún tipo de servicio odontológico para delimitar el daño una vez identificado.

Cultivos bacteriológicos.

Las variables que se asocian con el inicio de la lesión cariosa, son las microbiológicas, debido a lo cual la evaluación de la flora microbiana salival es el área donde se han producido en las últimas décadas el mayor número de investigaciones. Debido a lo cual, se ha discutido ampliamente sobre la existencia de variaciones intra individuales en el conteo de UFC, que dependen del tipo de muestreo empleado (saliva o placa dentobacteriana), del momento de toma de la muestra (matutino, vespertino), del tipo de masticación del donador (unilateral o bilateral). Sin embargo las evidencias científicas indican que el utilizar varias muestras de saliva recolectadas en diferentes momentos ya sea en varias ocasiones al día, varios días de la semana o varios meses, no se incrementa el valor explicativo de este muestreo cuando se asocia con el proceso carioso.^{103,110}

El crecimiento bacteriano de estreptococos en saliva se ha reportado en diversas magnitudes algunas evidencias indican^{93,107,108} que en individuos con caries activas se registra que entre el 82 y el 100% de los niños están infectados por este

grupo de bacterias y que en placas inoculadas con PDB se registra sólo el 57% de crecimiento bacteriano en medios selectivos. La información obtenida en este estudio sugiere que el 100% de las placas de saliva de los niños fueron positivas al cultivo y el 78% en las placas inoculadas con muestras de PDB. Analizando esta información con base a las cohortes de estudio se estableció que la cohorte de niños libres de caries el 55% fue positiva al cultivo contra un 62.5% reportado por otros investigadores.^{8,26,27,74,75,93} Y los niños carioactivos el 90% fue positivo en contraposición con el 100% reportado en estudios similares.⁹³

Se observó que el crecimiento de UFC de *S. mutans* en los binomios medio/inoculo utilizados no fue igual, estas bacterias se desarrollaron en el 100% de las placas del medio TSY20B inoculadas con saliva. En el 93% de las placas del medio MSB (n=56) con inoculo de saliva se registró crecimiento bacteriano. Las placas inoculadas con PDB tuvieron la siguiente distribución no se desarrollo ningún crecimiento bacteriano en el 22% (n=13) de los platos en ambos medios de cultivo, en el 12% (n=7) de los platos se tuvo exactamente el mismo número de UFC en ambos binomios, en el otro 31% (n=19) de los platos se tuvo un mayor crecimiento en MSB y en el 35% (n=21) de los platos restantes se presentó un mayor crecimiento en el medio TSY20B.

Habiendo establecido que los inoculos de PDB son más homogéneos en el número de UFC se analizó el crecimiento bacteriano de las placas en las cohortes de riesgo estudiadas y el desarrollo de nuevas lesiones. Observándose en la cohorte LC que el 45% de las placas de los niños (n=9) fueron negativas al cultivo en los dos medios, de los cuales 6 desarrollaron caries, el 10% (n=2) presentó conteos iguales de bacterias (los 2 desarrollaron nuevas lesiones) y el 35% (n=7) de la cohorte presentó los conteos mas altos en MSB (4 tuvieron incidencia de caries), y sólo en 2 niños (10%) predomino una mayor cantidad de UFC en TSY20B 1 no desarrollo caries.

En la cohorte CL el 15% de las placas de los niños (n=3) fue negativo al cultivo en los dos medios (1 desarrolló caries), otro 15% presentó cuentas iguales de bacterias (1 desarrolló nuevas lesiones), el 30% (n=6) de la cohorte presentó

conteos más altos en MSB, de los cuales 5 tuvieron incidencia de caries y en el otro 40% (n=8) predominó una mayor cantidad de UFC en TSY20B (3 desarrollaron nuevas lesiones de caries).

En estas dos cohortes la información sugiere que de 14 niños a los que se les registró altas cuentas bacterianas, 8 desarrollaron diversos episodios de caries apoyando las propuestas que asocian un mayor número de UFC con una mayor tendencia a enfermar.

En la cohorte de niños CA sólo el 5% de estos (n=1) fue negativo al cultivo en los dos medios y no desarrolló caries. El 10% (n=2) presentó conteos iguales de bacterias (1 desarrollo nuevas lesiones), el 30% (n=6) de la cohorte presentó los conteos más altos en MSB (4 tuvieron incidencia de caries) y en 11 niños (55%) predominó una mayor cantidad de UFC en TSY20B de estos, 8 desarrollaron caries.

El 54% de los niños cuyas placas fueron negativas al cultivo (n=7 de 13) desarrolló caries, Como ha sido demostrado la caries puede ocurrir en ausencia de niveles detectables de *S. mutans*, sugiriendo que otros microorganismos están involucrados en el proceso carioso^{88,89} Asumo que estos hallazgos pueden estar influidos por variables no incluidas en este estudio como fueron pH salival, inmunoglobulinas presentes, estructura del esmalte y tipo de alimentación entre otras. Sin embargo, las evidencias científicas indican¹²⁵ que algunas superficies que inicialmente son negativas al cultivo pueden infectarse rápidamente de otras áreas ó fisuras y fosetas contaminadas, aunque estas presenten bajos conteos microbianos,^{65,125,126,127}

La información sobre el crecimiento de UFC en los binomios medio/inoculo de PDB, sugiere que cuando se tiene poca caries (entre 1 y 3 dientes afectados) o se está sano, los medios tienen una probabilidad baja del 0.3 (n=12 de 40) de identificar correctamente el riesgo de los niños, sin embargo, conteos microbianos elevados con un alto índice de caries indican que el binomio medio/inoculo es altamente eficaz para discernir si un niño presentara nuevos episodios de caries.

Coeficientes de correlación.

El factor de correlación establecido entre las UFC y la experiencia de caries utilizando como unidad de medida el diente, en los medios inoculados con saliva fue de $r=0.3442$ en el medio MSB y $r=0.2107$ en TSY20B, información similar a lo establecido en otros reportes, ya que la relación directa entre las lesiones por caries y la UFC de *S. mutans* en saliva se ha reportado generalmente como una asociación que oscila entre débil y moderada.¹¹¹

Esta correlación refleja parcialmente la naturaleza multifactorial de la caries. Otra explicación de estas relaciones débiles y moderadas podría deberse a que el muestreo salival no ofrece suficiente información sobre el número real de bacterias en las superficies de mayor riesgo a enfermar que son las fisuras y fosetas oclusales.

En numerosos estudios^{25,26,123,124,125} se reporta un coeficiente de correlación ligero y significativo, sugiriendo que el factor de correlación aumenta cuando se asocia la cantidad de UFC sólo con el componente de dientes cariados del índice de caries, información similar a la obtenida en el presente estudio para el medio de soya tripticaseína, donde los valores del factor de correlación fueron: TSY20B/Sa y dientes cariados: $r=0.2113$; TSY20B/PDB y dientes cariados: $r=0.5341$. En cambio para el medio mitis salivarius se observó que el nivel de asociación disminuía: MSB/Sa y dientes cariados: $r=0.3302$, MSB/PDB y dientes cariados: $r=0.2739$.

Los hallazgos, en este sentido de nuestro trabajo indican que los coeficientes de correlación varían dependiendo de la transformación matemática que se haga de la información primaria debido a que su distribución no se encuentra dentro de los parámetros de normalidad, aumenta si la transformación es logarítmica y disminuye si se elige la mejor transformación de los datos, por lo cual se sugiere la utilización de programas estadísticos que puedan generar la mejor transformación de los datos primarios con el fin de no subestimar los coeficientes de correlación que se reportan, ya que estos varían dependiendo del tipo de inóculo utilizado.

Ahora bien, cuando para analizar la información se utiliza el análisis de regresión, calculando el coeficiente de determinación algunos autores han establecido que al menos 4% de las variaciones de la caries pueden ser explicadas por las variaciones de *S. mutans* en saliva, aunque se ha reportado que oscila entre 2 y 6%.^{112,113} los resultados del coeficiente de determinación calculados con los datos de este estudio sugieren porcentajes similares aunque en un rango de mayor amplitud que oscila entre el 4% y el 12%.

Mejor medio y tipo de inóculo.

La revisión de la literatura^{26,27} indica que las aproximaciones experimentales que más controversia ha generado para la identificación microbiana de riesgo a caries es por un lado el medio de cultivo que se emplea y por el otro el tipo de muestra o inóculo que se utilice.

Los resultados obtenidos demuestran que el medio TSY20B permitió un mayor crecimiento bacteriano cuando fue inoculado con saliva, el coeficiente de determinación indica que el 20% de las variaciones en el número de UFC se debió al tipo de medio utilizado, mientras que los medios inoculados con PDB indican que el crecimiento bacteriano tiene un coeficiente de determinación del 25%, estas cifras sugieren que entre el 20 y 25% de las variaciones en el número de UFC que se desarrollan se deben al tipo de medio utilizado. Aunque se demostró como queda explicado en los resultados que estas variaciones no son estadísticamente significativas y que existe interacción entre los medios.

Paralelamente al aplicar un análisis de correlación múltiple entre el número de UFC que crecieron en los binomios estudiados se estableció que éstos presentaban una asociación estadísticamente significativa, tal como ha sido reportado por otros investigadores.^{117,118,119,120}

Con relación al tipo de inóculo utilizado en los medios de cultivo, algunos investigadores indican que no se ha establecido diferencias significativas en el crecimiento bacteriano sobre diferentes medios. Nuestros hallazgos sugieren al analizar estadísticamente la información recolectada que la cantidad de UFC entre

los dos medios inoculados con saliva tiene variaciones estadísticamente significativas; datos que difieren de otros reportes,¹¹⁷ sin embargo, cuando se inoculan los medios con PDB, se estableció que el número de UFC es igual en los dos medios de cultivo empleados.

Estudios similares han establecido que la cantidad de *S. mutans* en muestras de placa, es siempre mas alta que en saliva, algunas autores^{69,71,107,114} indican que las fisuras y fosetas de las superficies oclusales son un reservorio natural de estas bacterias. En este sentido, el coeficiente de determinación entre los medios de cultivo, inoculados con saliva y PDB sugiere que el 23% de los *S. mutans* recuperados en las placas de saliva son bacterias que se desprenden de las fisuras y fosetas oclusales.

En esta investigación el medio de cultivo que obtuvo el mayor coeficiente de determinación para explicar las variaciones del índice de caries fue el TSY20B inoculado con PDB ya que explicó el 30% de las variaciones de las lesiones de caries. Mientras que cuando se utiliza saliva estimulada se observó que el MSB presenta una mayor dependencia, sin embargo, su coeficiente de determinación es menor del 12%. Esta información sugiere que existe mayor especificidad en los inoculos de placa que en los de saliva, resultados que difieren de algunas evidencias científicas,^{111,115} pero similares a otras.^{75,88,116}

Estos datos nos hacen pensar que el número de UFC presentes en los inoculos de PDB de fisuras y fosetas tienen la posibilidad de ser utilizados como uno de los indicadores de mayor peso en el pronóstico del desarrollo de caries dental.⁸⁹

Siendo uno de los propósitos de esta investigación el de determinar cual medio y que tipo de inoculo era el mejor indicador y de mayor poder predictivo de riesgo. La información aquí expuesta sugiere que el muestreo de PDB de fisuras y fosetas en TSY20B es el más eficaz para cumplir este objetivo, información que está de acuerdo con algunas evidencias científicas,^{71,81,114,117,121,128-130} y en contraposición con resultados publicados por otros investigadores.^{111,115,131}

El objetivo de aplicar un análisis de regresión múltiple a la información obtenida fue evaluar la relación entre los binomios medio/inoculo utilizados y la

experiencia de caries para realizar predicciones mas precisas. Habiéndose establecido una relación de causalidad con el crecimiento bacteriano en el medio TSY20B y los procesos de caries medidos en diferentes ocasiones. Este medio inoculado con PDB presenta una alta asociación tanto con la prevalencia de caries ($P<0.000$), así como con la experiencia final de la enfermedad ($P<0.0004$) y el único que obtuvo una significancia aunque marginal con el número de dientes con incidencia ($P<0.091$).

Con la información hasta aquí presentada podemos concluir que los datos obtenidos en esta investigación sugieren que efectivamente no hay variaciones en el número de UFC entre los medios de cultivo y que las diferencias observadas no son significativas, afirmación que esta de acuerdo con las evidencias presentadas por algunos investigadores. Estas variaciones en el número de UFC en las muestras clínicas dependen mas bien, del tipo de inóculo que sea utilizado.^{117,121}

Así mismo, se observó el patrón de aumento de UFC del grupo mutans conforme aumenta la edad, tendencia que ha sido reportada con anterioridad.^{118,122} Ahora bien, cuando la información se analizó a través de análisis multivariados para determinar el efecto de la edad en el número de UFC en los diferentes medios e inóculos, se estableció que no existen diferencias significativas entre los promedios de UFC por edad, estableciéndose que la edad no fue un factor que haya influido en el crecimiento bacteriano.

Asociación entre el medio TSY20B y el desarrollo de lesiones cariosas en las cohortes.

El grupo de caries leve obtuvo el menor promedio de UFC tanto en saliva como en PDB y la menor incidencia de caries, (nuevas lesiones por superficie 1.5 vs 2.2 y 3.6). Información similar a la reportada en otros estudios (a menor número de bacterias, menor incidencia de caries).^{89,111,115,116,123}

En la cohorte de caries alta las cuentas de *S. mutans* recuperadas en la población, aumentaban dependiendo de la experiencia de caries de los niños a los que se les realizó el muestreo bacteriológico, los niños con el mayor número de

lesiones presentaron los conteos microbianos más altos. En este grupo el 90% de los niños tuvieron conteos mayores o iguales a 10^5 , porcentaje que difiere del establecido en otros estudios que es del 50%.^{88,124}

Esta correlación no fue tan clara en el grupo de niños libres de caries. El 50% de los niños fueron detectados con conteos mayores de 10^5 , seis (30%) de los cuales presentaron caries dental y desarrollaron entre 1 y 6 dientes afectados. De los niños negativos al cultivo (9) el 78% desarrolló caries dental pero el número de dientes afectados fue diferente entre 2 y 4 dientes. Esta vía de desarrollo de la lesión cariosa debió verse influida por la presencia de bacterias cariogénicas en los reservorios naturales de estos microorganismos, como lo son defectos estructurales, caras proximales y el dorso de la lengua.^{69,107,109}

Identificación bioquímica de los *Streptococcus* y el proceso carioso.

En el 95% de los niños sanos se aisló el grupo mutans en fisuras y fosetas porcentaje mayor al reportado para individuos sin caries y en el otro 5%, se aislaron bacterias del tipo estreptococos no cariogénicos.¹⁰⁷ El 73% de los niños carioactivos (29 de 40) presentó evidencias de estar colonizado por este microorganismo en PDB de fisuras y fosetas, siendo éste porcentaje mayor al reportado en individuos con caries por otros investigadores. El restante 23% correspondió a estreptococos no cariogénicos del grupo *S. oralis*.¹⁰⁷

Al analizar esta información por cohorte identificando a los microorganismos del grupo mutans, se estableció que en la cohorte de niños sanos, el 50% (n=10) de estos registro como microorganismo predominante *S. mutans*, de los cuales el 60% (n=6) desarrollo caries, al 37% se les identificó como bacteria predominante *S. sobrinus* de los cuales el 72% (n=5) desarrolló nuevas lesiones. Indicador que apoya las evidencias que las bacterias *S. sobrinus* son mas cariogénicas que *S. mutans*.

En la cohorte de niños con caries leve el 35% (n=7) se les identificó *S. sobrinus* como bacteria predominante, el 30% (n=6) presentó *S. mutans*; de estos 13 niños a los que se les identificó estos dos microorganismos considerados como los mas cariogénicos, el 53% desarrolla nuevas lesiones por caries. A los demás niños

(35%) de la cohorte se les determinaron estreptococos no cariogénicos del tipo *S. mitis*, *S. sanguis* y *S. salivarius*, de los cuales el 29% (n=2) desarrolló nuevas lesiones.

En el 50% de niños de la cohorte con caries alta, se les identificó como microorganismo predominante *S. sobrinus* y de estos el 70% enfermó (n=7). El 20% (n=4) presentó estreptococos no cariogénicos y de éstos el 75% (n=3) desarrollaron caries entre 1 y 3 lesiones.

En la presente investigación se estableció que el 20% de los microorganismos aislados corresponden al grupo de estreptococos no cariogénicos, *S. salivarius*, *S. mitis* y *S. sanguis*.

Los niños que presentaron otro tipo de estreptococo predominante por un lado debieron de haber tenido fisuras y fosetas poco profundas y por lo tanto la PDB de las fisuras y fosetas debió de estar en un estado de formación inicial, existen evidencias que estas bacterias colonizan las superficies de manera inicial, o están presentes en superficies que han sido limpiadas recientemente.^{107,114,132-135} Paralelamente se ha descrito que a mayor colonización por *S. mutans* va desapareciendo el nivel de infección por *S. sanguis*.⁹⁰

Por otro lado se encuentra descrita en la literatura una nueva línea de investigación que sugiere, que varios organismos pueden causar caries en diferentes superficies de los dientes, la idea central que subyace a esta nueva hipótesis es que diferentes superficies de los dientes pueden resultar afectadas a través de diversos modos de acción de los microorganismos.¹²⁶

Hallazgos similares al nuestro, donde se registran en medios selectivos estreptococos no cariogénicos, han sugerido que cuando se estudia a las bacterias cariogénicas, deberá de tenerse siempre en consideración algunos estreptococos considerados como no cariogénicos específicamente al *S. sanguis* y el *S. mitis* ya que no se ha logrado por un lado descartar el papel que estas bacterias juegan en el proceso carioso y por otro lado su capacidad de co-agregación bacteriana. Se ha demostrado¹³⁶ que este grupo tiene la habilidad de ocasionar un pH final muy bajo en muestras de PDB en los individuos sobre todo de alto riesgo, situación que

influye obviamente en la potencialización del proceso de desmineralización del esmalte.¹⁰⁸

Los niños que continuaron sin desarrollar caries asumimos que tuvieron una menor exposición a los factores cariogénicos comparados con la resistencia natural a este proceso morboso.

Algunas evidencias científicas al respecto entre individuos sanos y carioactivos atribuyen las diferencias en el proceso carioso a la morfología dental, contenido de flúor en esmalte, niveles salivales de anticuerpos u otros parámetros que lamentablemente no fueron incluidos en el presente estudio.^{93,137,138}

En la presente investigación la información estableció que existen diferencias en los conteos bacterianos, así como variaciones en la experiencia de caries, diferencias en la frecuencia y/o distribución de los microorganismos cariogénicos y una distribución diferente de la esperada con respecto a la colonización de los estreptococos cariogénicos, así como prevalencias diferentes de colonización de fisuras y fosetas entre niños sanos y enfermos.

La información de ésta investigación sugiere que tanto niños sanos como con caries leve ó alta pueden presentar dependiendo del muestreo y del inóculo pocas UFC o altos conteos de bacterias presentes en la boca, pero es importante resaltar que se encontraron bacterias cariogénicas en todos los grupos y en todos los niños, lo que indica el riesgo que todos los individuos tienen a enfermar,¹³⁹ y que solamente es necesario que alguno de los factores que determinan la enfermedad se altere para que el equilibrio establecido entre los procesos de remineralización y de desmineralización se vean afectados.

Ninguna de las otras variables estudiadas presentó asociaciones de mayor peso que las descritas hasta el momento, con el proceso carioso.

Como conclusión de esta primera parte del análisis de la información se puede decir que los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran que el número de UFC en TSY20B es mayor y más consistente que los conteos de *S. mutans* en MSB agar, en cuanto al tipo de muestreo utilizado se observó que él

inoculo de PDB en este medio fue el único que presentó relaciones estadísticamente significativas tanto con la prevalencia como con la incidencia de caries.

Modelos de identificación de riesgo a caries.

Ahora bien los elementos hasta aquí descritos, nos inducen a reconsiderar que abordar un fenómeno multifactorial a través de asociaciones univariadas no permite por un lado establecer factores de correlación altos y por el otro lado, tampoco relaciones de causalidad, puesto que sólo una pequeña parte de la enfermedad va a estar explicada por ese tipo de modelos, es por lo cual se tienen que establecer modelos de mayor complejidad (multivariados) con el fin de establecer asociaciones múltiples acorde a la complejidad del proceso.

En este contexto hay que considerar que la caries dental es una enfermedad que inicia su desarrollo con mucho tiempo de anticipación a la producción de sus manifestaciones clínicas visibles. Los modelos que se han generado como predictores de riesgo, son conocidos en el medio odontológico como pruebas de actividad de caries. Su principal objetivo se centra en tratar de diagnosticar la enfermedad y brindar el tratamiento necesario antes que las lesiones cariosas sean irreversibles.

Estos modelos diagnósticos se han generado a partir de: las asociaciones relevantes que se han establecido entre el número de bacterias presentes en saliva estimulada o PDB, la prevalencia de la enfermedad o la actividad cariogénica.

El conteo de UFC de *S. mutans* y *Lactobacillus sp.* ha sido recomendado como predictores de caries, debido a que permiten la identificación de individuos con alto riesgo de desarrollar caries, sin embargo sus resultados no son siempre previsibles.^{111,140}

Algunos estudios han construido modelos predictivos utilizando estas dos variables bacterianas combinadas en asociación con otras variables que se han descrito en la literatura como predictoras de riesgo: la higiene oral, el volumen de secreción salival estimulada y el pH salival.¹¹² Los resultados obtenidos por algunos grupos de investigadores,^{108,111,112} determinaron que el mayor nivel de detección de

riesgo se centra en la combinación del conteo de *S. mutans* y su asociación con la incidencia de caries; en el conteo de *S. mutans*, en la higiene oral y su asociación con la incidencia; y en la combinación de los conteos de lactobacilos y *S. mutans*, con la expresión final de la enfermedad; estableciendo para el modelo una sensibilidad del 0.42 y una especificidad del 0.83.

En estudios similares,¹³¹ también se ha tratado de demostrar que si la caries es un proceso multifactorial deben de existir variables confusoras que alteran los resultados de estas pruebas predictivas. Partiendo de la hipótesis que el *S. mutans* es el generador de la lesión de caries los factores de confusión podrían ser la higiene oral y el número de bacterias alternativas del tipo lactobacilos, así como a la inversa (conteo de UFC de lactobacilos e higiene oral y el número de UFC alternativas de *S. mutans*). Habiendo logrado establecer que aumenta la capacidad diagnóstica de los conteos microbianos del 0.23 al 0.63 cuando la variable independiente es el *S. mutans*, y 37% cuando la variable independiente es los lactobacilos, resultados obtenidos al analizar la información a través de análisis discriminante.

Otro grupo de investigadores,¹⁴¹ ha utilizado los índices ceo y CPOS, conteo de UFC de las bacterias antes mencionadas, el volumen de flujo salival estimulado, en reposo, el pH salival, la dieta a través de un índice de consumo de azúcares, utilización de tabletas de flúor y la frecuencia de uso de antibióticos, utilizando para su análisis modelos de regresión (Stepwisse), estableciendo los coeficientes de determinación de cada variable en su asociación con la incidencia y sumando los valores de cada uno en cada paso de la investigación. Estableciendo finalmente que su modelo ha llegado a obtener una sensibilidad del 0.82 y una especificidad del 0.78.

También se han elaborado modelos que incluyen, variables clínicas (ceo y CPO D y S) variables microbiológicas, índices de acumulación de PDB, variables socioeconómicas y hábitos dietéticos. Esta información fue analizada en su momento a través de modelos de regresión por pasos utilizando análisis

multivariados lineales con función discriminante. Modelo que ha obtenido una sensibilidad del 0.77 y una especificidad del 0.86.¹⁴²

Uno de los grupos mas fuerte en investigación sobre modelos predictivos en los Estados Unidos de Norteamérica desde 1987,¹⁴³⁻¹⁴⁶ incluyo en uno de sus modelos, variables como: edad, raza, sexo, nivel socioeconómico, superficies afectadas, CPO-S, índice de placa de Greinger, estado dental, nivel de fluorización, primeros molares temporales afectados y superficies molares afectadas. Después de 4 años de seguimiento establecieron a través de funciones discriminantes y de regresiones logísticas lineales que ese modelo propuesto tenía una sensibilidad del 0.51 y una especificidad del 0.84.

Los investigadores suecos han incursionado en modelos predictivos a través de 2 vertientes: la primera,¹⁴⁰ utiliza factores de correlación entre la actividad de caries, enfermedad periodontal, volumen promedio de secreción salival, conteo de lactobacilos y presencia de levaduras. Su modelo predictivo tiene una sensibilidad entre el 0.67 y 0.85 y una especificidad entre el 0.75 y 0.91 ya que trabaja con las variables en forma independiente.

La otra vertiente que ha desarrollado la mayoría de las pruebas diagnósticas^{74,75,147} de venta en el mercado internacional, incluye además pH salival, frecuencia de caries, lesiones incipientes y defectos macroscópicos estructurales. Estableciendo que su modelo correlaciona significativamente a dos años con la incidencia, la presencia de *S. mutans*, las lesiones incipientes de caries, los defectos estructurales y la experiencia anterior de la enfermedad.

En Inglaterra el modelo que se ha sugerido tiene mayor valor predictivo es el que registra el índice CPO-S, la capacidad buffer salival, el conteo de los dos microorganismos asociados con la caries y dos variables de dieta (frecuencia y calidad). Las asociaciones significativas que se establecieron fueron: el conteo de *S. mutans* y de lactobacilos, la capacidad buffer salival y la experiencia previa de la enfermedad. Su modelo presentó una sensibilidad del 0.63 y una especificidad del 0.78 después de 3 años de seguimiento.

En Finlandia¹⁴⁸ se han generado modelos que registran, nivel de infección de *S. mutans*, flujo salival: estimulado y en reposo, así como una encuesta dietética, no habiendo logrado establecer una correlación lineal entre la ingesta de azúcares y el *S. mutans*, aportando que el volumen de secreción salival decrece conforme aumenta el nivel de infección, utilizando para el análisis de la información, sólo factores de correlación entre las pruebas realizadas.

Actualmente se considera como riesgo cariogénico a aquellos individuos que en un tiempo determinado presentan o están en riesgo de desarrollar lesiones cariosas y se ha establecido que sólo deben de existir dos tipos de riesgo alto y bajo. Un individuo en riesgo es aquella persona que presenta un alto potencial de desarrollar la enfermedad en condiciones preestablecidas a través de los signos y síntomas presentes.¹⁴⁹

Sin embargo, como se ha expuesto, los modelos que se han presentado, son aplicables a países desarrollados cuyas condiciones bucales poco tienen de relación con las condiciones bucales, socioeconómicas o raciales de los países subdesarrollados. Así como tampoco, estos modelos han analizado o descrito la forma de enfermar de sus poblaciones, que es parte esencial en el desarrollo de rubro de resultados en esta tesis.

El análisis de la información usado en el presente trabajo agrupa a los individuos con las características más parecidas. Donde la idea que subyace al análisis por conglomerados es la formación de grupos internamente homogéneos y a la vez lo más diferenciados entre sí considerando simultáneamente todas las variables.

Es así, que cuando se generó el modelo descrito en resultados, los elementos de análisis sugieren que la caries dental es diferente en forma proporcional al riesgo, los niños de bajo riesgo se mantienen casi igual después de 18 meses, el mediano riesgo incrementa en promedio un diente permanente y tiene altos conteos de bacterias acidógenas del tipo mutans y el grupo de alto riesgo en el mismo periodo desarrolla 2 dientes mas con caries en la dentición temporal y su respuesta a los medios de cultivo es mayor en los medios selectivos a lactobacilos. A mayor

número de lesiones cariosas sin tratar, aumenta el número de dientes que se enferman. Los dientes con lesiones por caries explican el 37% de las variaciones finales de la enfermedad, su comportamiento es diferente dependiendo del riesgo inicial que se les asignó a los niños $P=0.0004$.

Sería importante resaltar los patrones que se establecieron con la información recolectada, el riesgo medio se presentó en niños con altos índices de caries en la dentición permanente y altos conteos de UFC del grupo mutans, tanto en saliva como en PDB. Si el mayor daño se presentaba en la dentición temporal y había respuestas microbianas altas a los lactobacilos, ésta dentición fue la que se encontró más afectada al terminar el estudio.

Información que sugiere que sería probable que estos elementos sean los que disminuyen la capacidad predictiva de estas pruebas diagnósticas cuando son utilizadas en forma independiente y no se toma en consideración la proporción de dientes temporales y permanentes, tanto presentes como afectados por caries en una población con dentición mixta.

Los resultados de esta investigación demuestran que al analizar en conjunto los marcadores número de dientes y superficies afectadas por caries, número de lesiones con caries activas, cantidad de UFC en el medio TSY20B inoculado con PDB, conteo de Lactobacilos y la prueba de velocidad de acidificación del medio de Snyder, se logra una certeza diagnóstica del 0.94.

Existe un gran número de reportes científicos^{68,72,75,140,143-145,150-158} que aceptan, que en estudios observacionales la medición individual o grupal de diferentes variables etiológicas de caries no explican satisfactoriamente la enfermedad. En este sentido, los modelos predictivos generados para estimar el papel de las diversas variables en esta enfermedad no han sido totalmente satisfactorios, para predecir el riesgo. La aportación de nuestro modelo de identificación de riesgo radica en la mayor certeza lograda mediante el medio empleado para la identificación de *S. mutans* (TSY20B), el muestreo de fisuras y fosetas, conjuntamente con el conteo de lactobacilos y la velocidad con que estos acidifican la saliva. Así como la aplicación del modelo matemático que estableció un

coeficiente de determinación del 37% mayor que el establecido por otros investigadores.¹⁴⁵

Estos hallazgos permiten establecer programas y prioridades de atención que optimizarán los escasos recursos humanos y materiales con que actualmente se cuenta en el área de odontología en el sector salud.

Un niño de bajo riesgo, deberá de integrarse a un programa preventivo en que se le enseñe una adecuada técnica de cepillado, control de PDB y aplicaciones anuales de flúor en gel.

El niño al que se le ubique como mediano riesgo deberá de integrarse a un programa de saneamiento básico, técnica de cepillado, control de PDB, aplicaciones semestrales de flúor y colutorios nocturnos de flúor.

El programa preventivo para los niños de alto riesgo, deberá incluir además de lo descrito para los otros riesgos: monitoreo dietético, selladores de fisuras y foseas con liberación prolongada de flúor en la dentición permanente y monitoreo semestral de *S. mutans* y lactobacilos.

Con relación a las diferentes tipologías seleccionadas de riesgo establecidas en el presente estudio, se podría sugerir un perfil de riesgo en los niños, se estima que la tipología de bajo riesgo será aplicable a aquel individuo que presente un conteo de ≤ 2 UFC ($\times 10^5$) en PDB de *S. mutans*, con conteos bajos de lactobacilos 2 UFC ($\times 10^4$), que se encuentre sano o presente una superficie afectada entre los 8 y 10 años, y una producción de ácidos ligera en saliva, la enfermedad se presentará aproximadamente en 1 de cada tres niños.

El criterio de tipología de mediano riesgo se podrá aplicar a aquellos niños que en promedio presenten entre 1 y 3 dientes afectados ó entre 3 y 6 superficies con lesión, predominando el fenómeno en la dentición permanente, un conteo bacteriano de *S. mutans* bajo en PDB, pero altos proporcionalmente los conteos de lactobacilos 1.9 UFC ($\times 10^4$) y una acidez salival entre ligera y moderada. Se calcula que este tipo de niños desarrollará en promedio entre 2 y 4 nuevos dientes con caries en la dentición permanente y hasta 7 superficies afectadas.

Los niños con una tipología de alto riesgo se podrán determinar por altos conteos microbianos de *S. mutans* en PDB $\geq 10^6$ en medio selectivo, conteos similares de lactobacilos 6 UFC ($\times 10^5$), que inicialmente presenten más de 5 dientes afectados por caries, en promedio trece lesiones, que estas sean activas y que la producción de ácidos de sus bacterias sea entre moderada y marcada. Entonces se calcula que en promedio podrá desarrollar entre 5 y 9 dientes afectados y hasta 17 lesiones por caries en un lapso de 18 meses.

Sería importante continuar con esta línea de investigación para establecer el momento en que se inicia la segunda ventana de infección, elemento que determina el tipo de riesgo a enfermar, ya que es en ese momento que se establecen los patrones microbianos o coagregaciones bacterianas que determinaran la cariogenicidad del individuo.

11. PROPUESTAS DE INVESTIGACION A FUTURO

A partir de los hallazgos de la presente investigación, se piensa continuar dos líneas de investigación.

La primera plantea aumentar el tamaño de la muestra, aquí representada, con niños que pertenezcan al mismo marco muestral, donde se aplicaría la misma metodología utilizada en la investigación aquí descrita para comprobar las tendencias de caries dental en ambas denticiones, ya que los hallazgos descritos con relación a las formas de respuesta a los medios de cultivo dependiendo del tipo de dentición que se ve afectada, no han sido descritas en la literatura.

La segunda línea de investigación que pretende aplicar el modelo de riesgo establecido, para analizar su validez como método diagnóstico.

12. APENDICE 1

Los resultados que a continuación se presentan se agruparon para su mejor entendimiento en la siguiente secuencia:

1. Descripción de la población estudiada por edad y su relación con:
 - a) Número de dientes presentes.
 - b) Número de dientes presentes permanentes.
 - c) Proceso de caries dental.
 - d) Distribución de las U.F.C. de *S. mutans* en medios de cultivo sólidos.

1. Descripción de la población estudiada por edad. Se estudiaron 60 niños, 50% niños y 50% niñas. En relación con la edad al inicio del estudio el 16.7% (10) tenían 8 años, el 33.3% (20) 9 años de edad y el 50% (30) 10 años. La distribución por edad y sexo fue homogénea $P=1.0$, (Cuadro 1, gráfica 1)

1a. El promedio de dientes presentes en la población estudiada fue de 24.3 ± 1.3 , el análisis de varianza demostró que su comportamiento era homogéneo entre las edades estudiadas, sin diferencias estadísticamente significativas; $P=0.165$ (gráfica 2).

1b. La distribución promedio de dientes permanentes fue de 11.8 ± 1.8 a los 8 años; de 11.6 ± 1.9 dientes a los 9 años y de 14.9 ± 1.5 dientes a los 10 años. Al analizar la información a través de ANOVA se determinó que las medias eran estadísticamente diferentes, la edad de 10 años con una media mayor a las otras dos edades sin diferencia entre estas dos últimas. $P < 0.0001$ (gráfica 3)

1c. Distribución del proceso de caries por edad; el cuadro 2 describe el proceso de caries utilizando como unidad de medida el diente en los sujetos estudiados. Al inicio del estudio a los 8 años el ceo-d fue de 2.9 y no se detectó caries en la dentición permanente al finalizar el estudio el ceo-d había disminuido

y el CPO-D fue de 0.3; con una incidencia de caries de casi 1 diente por niño (0.8). En esta edad las diferencias entre los promedios iniciales y finales del proceso de caries no fueron estadísticamente significativas cuando se analizó la información utilizando la prueba t para muestras pareadas.

A los 9 años el índice ceo-d fue de 2.4 al iniciar el estudio y de 1.6 al finalizar el mismo, la diferencia entre estos promedios presentó una significancia marginal ($P=0.056$). El índice CPO-D para esta edad se determinó en 1.2 dientes en promedio al inicio vs 2.4 al final, habiéndose establecido que existían diferencias estadísticamente significativas entre estos $P=0.017$. La incidencia de lesiones por caries fue de 1.6 dientes en promedio.

A los 10 años el índice ceo-d disminuyó al finalizar el estudio, el índice de caries aumenta proporcionalmente en la dentición permanente; la incidencia fue igual a la del grupo de niños con 9 años. En esta edad, al aplicar la prueba t para muestras pareadas se demostró que existían diferencias estadísticamente significativas entre los promedios iniciales y finales de los índices de caries para dentición temporal y permanente.

La experiencia de caries (ceo+CPO) inicial y final, así como la incidencia de la enfermedad mostró que las diferencias entre las medias iniciales y finales se pueden deber al azar $P>0.05$. (gráficas 4y 4') En las gráficas la línea gruesa que se observa es la línea de regresión calculada y las líneas delgadas son los niveles de confianza. Si la información recolectada cae dentro de estas líneas es que existen diferencias significativas.

Esta información sobre el proceso carioso cuando se utiliza como unidad de medida las superficies afectadas se describe en el cuadro 3. El índice de caries para la dentición temporal disminuye no significativamente en cada grupo de edad al finalizar el estudio, ésta disminución fue de 1 diente en promedio. Al realizar prueba t para muestras pareadas entre las medias iniciales y finales de cada índice por edad se estableció que las diferencias en entre los promedios de ceo-s no fueron significativos. $P<0.05$.

A los 8 años de edad al iniciar el estudio el CPO-S inicial fue de 0, y se incrementa ligeramente al final del mismo con una incidencia de 0.8 superficies por niño en promedio sin diferencias significativas. A los 9 años el CPO-S se incrementa de 2.2 a 4.5; con una incidencia de 3.4 superficies en promedio. Los niños con 10 años tenían un CPO-S inicial de 3.2 y de 5.4 final con una incidencia de 2.5 superficies en promedio (Gráficas 5 y 5'). Para los 9 y 10 años las diferencias son significativas al 0.05%.

Al realizar la prueba t para muestras pareadas entre las medias iniciales y finales de cada índice por edad se estableció que las diferencias entre los promedios no fueron significativas. En cuanto al índice de caries por superficie para la dentición permanente (CPO-S), éste mostró una tendencia inversa todas las medias iniciales y finales por grupo de edad fueron estadísticamente diferentes.

El comportamiento estadístico de la experiencia global de caries inicial, final y la incidencia de la enfermedad por superficie fue igual que cuando se utiliza como unidad de medida el diente, las diferencias encontradas pueden deberse al azar ($p < 0.074$).

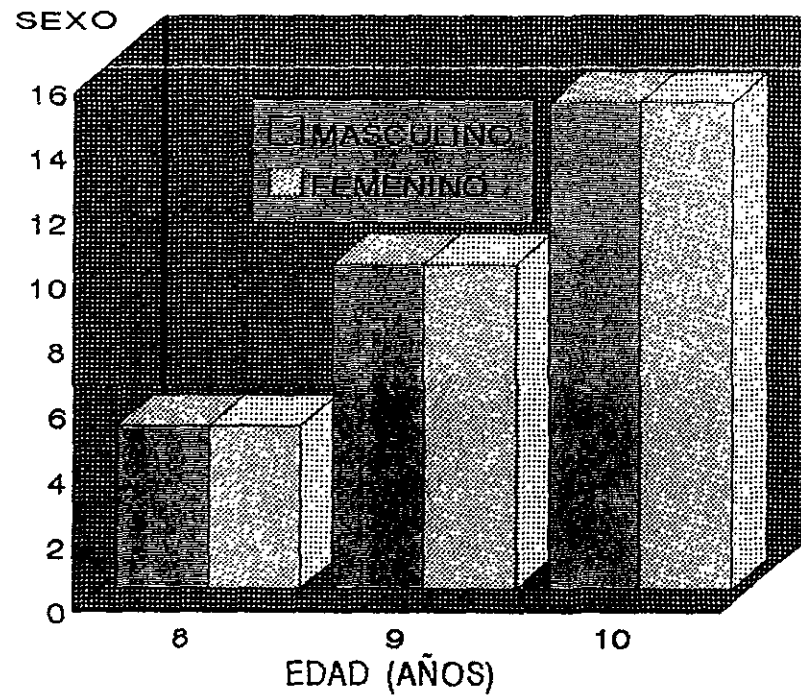
1d. Distribución de las UFC de *S. mutans* por edad. En el cuadro 4 se aprecia la distribución de la bacteria en los niños examinados en los diferentes medios de cultivo y por tipo de muestreo utilizado. El conteo de UFC en los medios de cultivo se comporta en forma similar, mayor crecimiento de UFC en placa y menor en saliva, aumentando el número de UFC proporcionalmente a la edad. Solo a los 8 años se observa una discrepancia: mayor crecimiento bacteriano en TSY2OB inoculado con saliva y menor en el medio inoculado con placa (Gráficas 6-9). Al analizar la información a través de un MANOVA para determinar el efecto del binomio medio/inoculo (binomio estandarizado) por edad, no se estableció que hubiera diferencias estadísticas significativas entre los promedios de UFC para cada tipo de inoculo y medio obtenidos en ninguna de las edades analizadas. La edad no influye en el crecimiento bacteriano, ($P > 0.9588$) Gráfica 10.

Cuadro 1a. Distribución por edad y sexo de la población.

Edad	sexo				total	
	Masculino		Femenino			
	N	%	N	%	N	%
8	5	8.3	5	8.3	10	16.7
9	10	16.7	10	16.7	20	33.3
10	15	25.0	15	25.0	30	50.0
total	30	50	30	50	60	100.0

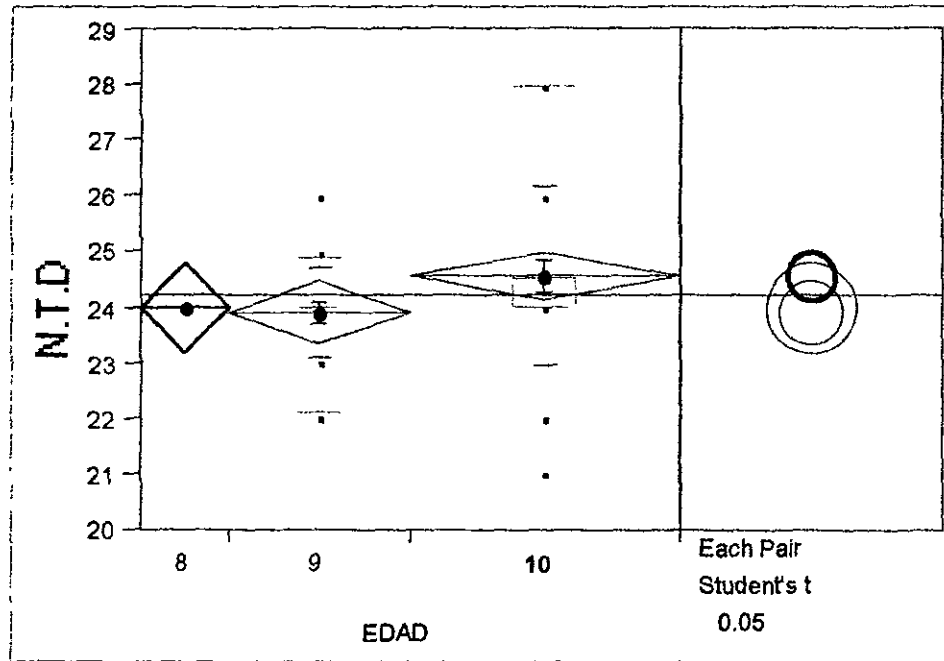
P=1.0

GRAFICA 1. DISTRIBUCION POR EDAD Y SEXO DE LA POBLACION ESTUDIADA



Gráfica 2

ANALISIS DE VARIANZA ENTRE EL NUMERO TOTAL DE DIENTES PRESENTES (NTD) Y EDAD

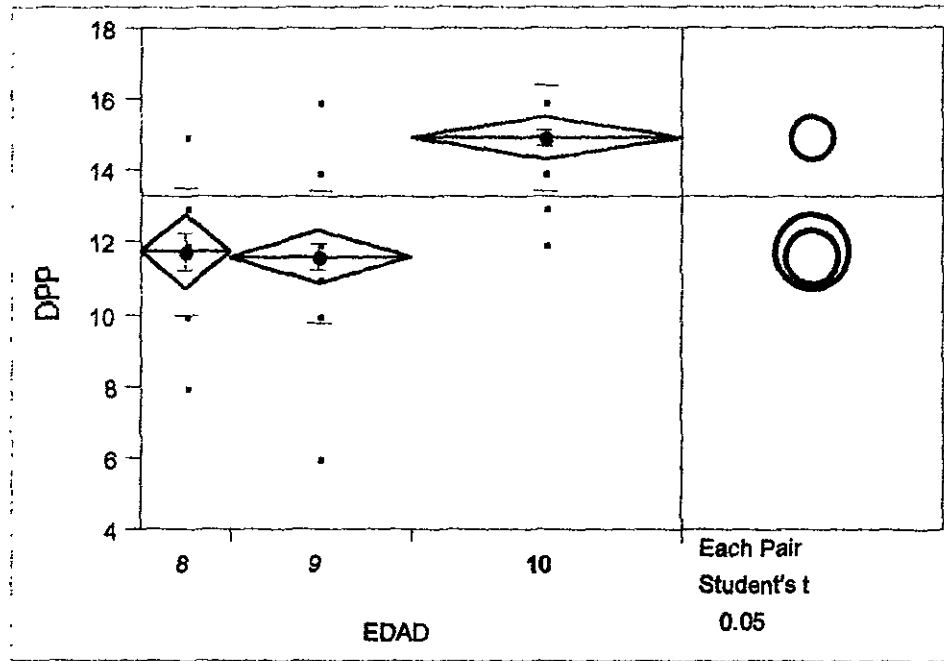


$R^2 = 0.06$

$P < 0.547$

Gráfica 3

ANALISIS DE VARIANZA DE LA DISTRIBUCIÓN DE LA DENTICION PERMANENTE PRESENTE (DPP) Y LA EDAD



$R^2 = 0.50$

$P < 0.000$

Cuadro 2a. Promedios de los índices de caries dental inicial y final por edad en la población estudiada utilizando como unidad de medida el diente.

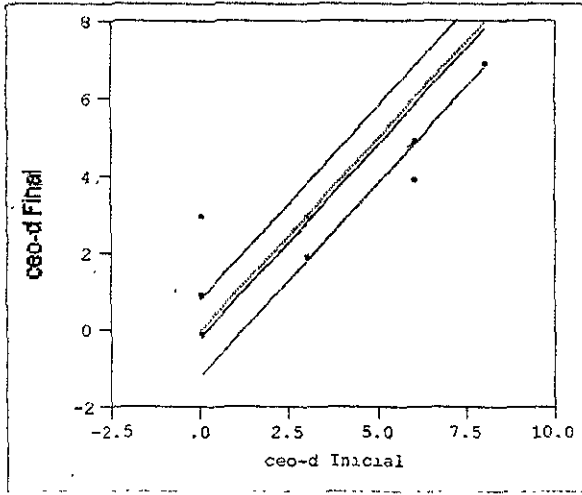
EDAD	INDICES									
	INICIAL			FINAL				Sig. Est.		
	ceo-d	CPO-D	Exp. Car.	ceo-d	CPO-D	Exp. Car.	Dientes/Incide.	ceo i-F	CPO i-F	Exp. Car
8	2.9	0.0	2.9	2.6	0.3	2.9	0.8	0.662	0.081	0.84
9	2.4	1.2	3.6	1.6	2.4	3.9	1.6	0.056	0.017	0.439
10	0.9	1.9	2.8	0.3	3.4	3.6	1.6	0.048	0	0.091
GLOBAL	1.7	1.3	3.1	1.1	2.5	3.6	1.5			

Gráfica 4

COMPARACIÓN CON "t" APAREADA DE LOS ÍNDICES INICIALES Y FINALES DE CARIES POR EDAD, UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA EL DIENTE

EDAD 8

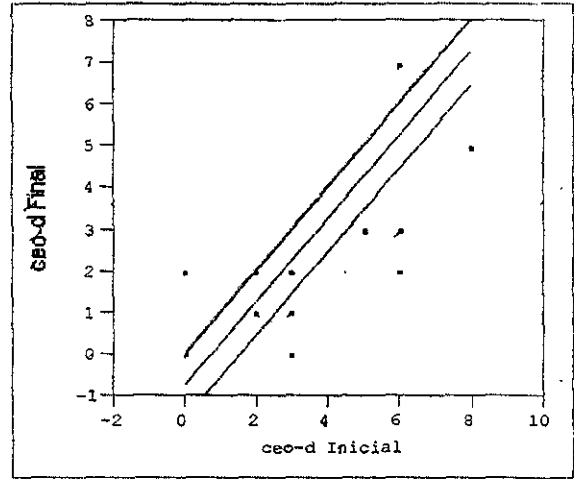
ceo-d Final por ceo-d Inicial



$P > 0.6618$

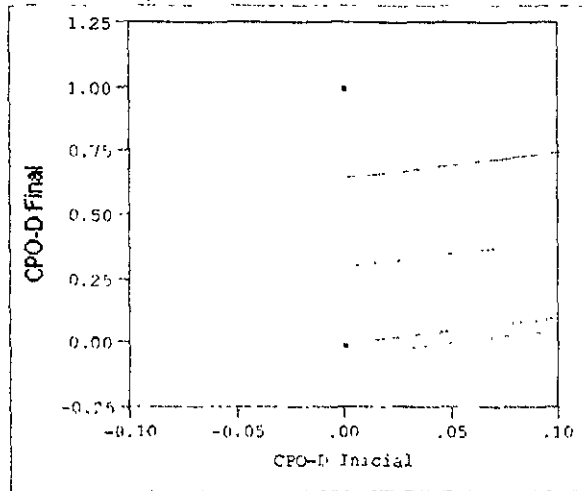
EDAD 9

ceo-d Final por ceo-d Inicial



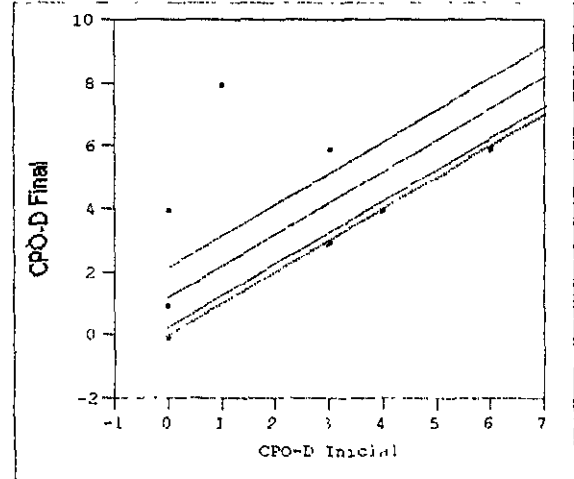
$P > 0.0563$

CPO-D Final por CPO-D Inicial



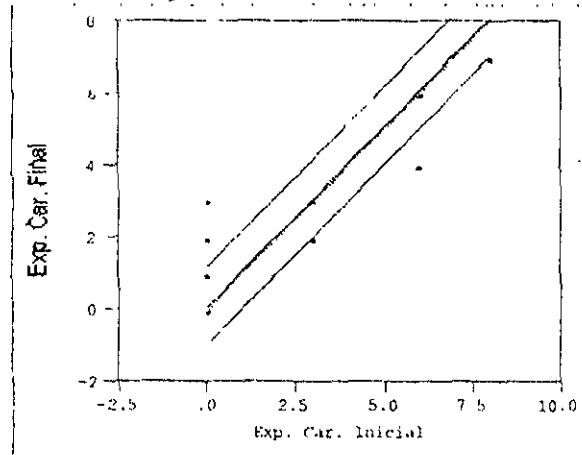
$P > 0.0811$

CPO-D Final por CPO-D Inicial



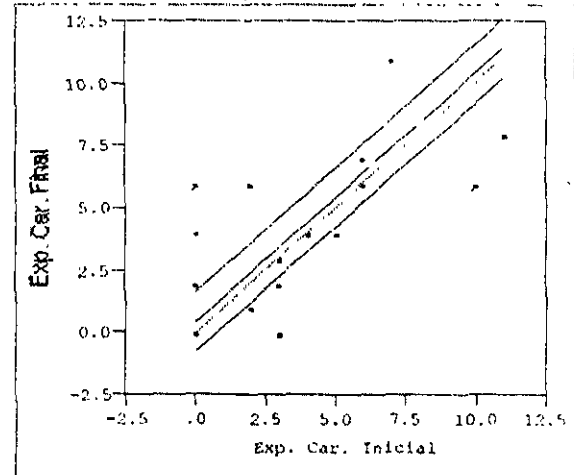
$P < 0.0165$

Exp. Car. Final por Exp. Car. Inicial



$P > 0.8402$

Exp. Car. Final por Exp. Car. Inicial

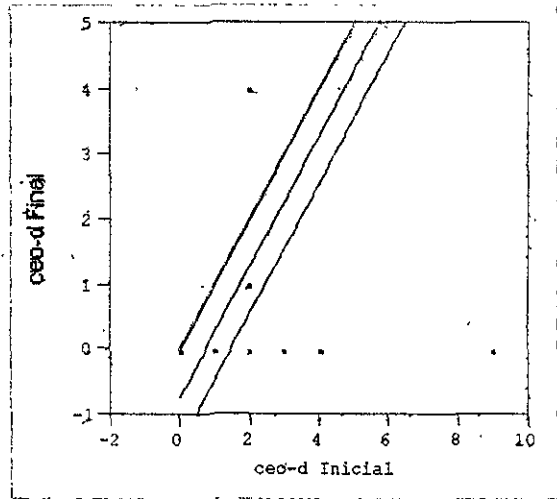


$P > 0.4386$

Gráfica 4

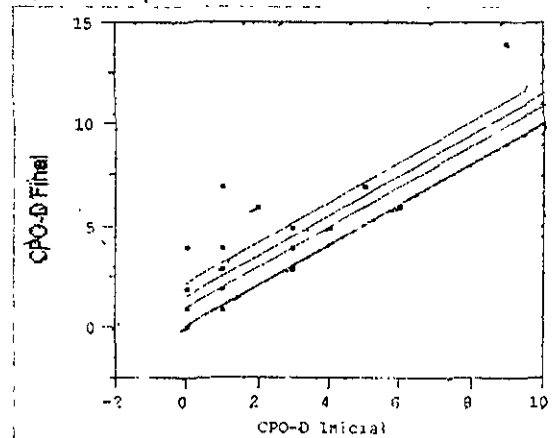
COMPARACIÓN CON "t" APAREADA DE LOS ÍNDICES INICIALES Y FINALES DE CARIES POR EDAD, UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA EL DIENTE

Edad 10 años
ceo-d Final por ceo-d Inicial



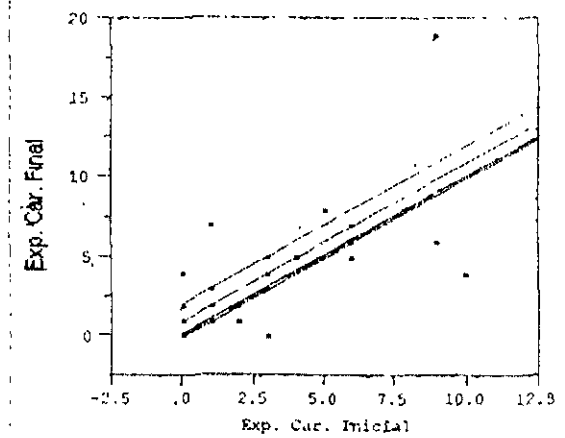
P<0.0481

CPO-D Final por CPO-D Inicial



P<0.0000

ceo-d+CPO-D F. por ceo-d+CPO-D In.



P>0.0911

Cuadro 3a. Promedios de las superficies afectadas iniciales y finales por edad en la población estudiada utilizando como unidad de medida la superficie.

EDAD	INDICES									
	INICIAL			FINAL				Signif. "t" pareada		
	ceo-s	CPO-S	Exp. Car	ceo-s	CPO-S	Exp. Car.	Sup/Incide.	ceos-F	CPOS- F	Exp S-F
8	6.3	0.0	6.3	5.5	0.3	5.8	0.8	0.309	0.081	0.713
9	4.8	2.2	6.9	3.8	4.5	8.3	3.4	0.186	0.009	0.152
10	1.6	3.2	4.8	0.5	5.4	5.7	2.3	0.106	0.000	0.288
GLOBAL	3.4	2.3	5.8	2.5	4.3	6.6	2.5			

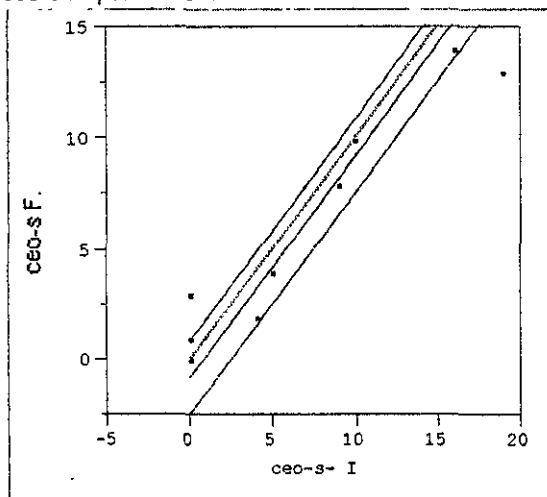
* Diferencias significativas entre los promedios de los índices inicial y final utilizando la prueba "t" apareada

Gráfica 5

COMPARACIÓN CON "t" APAREADA DE LOS ÍNDICES INICIALES Y FINALES DE CARIES POR EDAD, UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA LA SUPERFICIE

EDAD 8

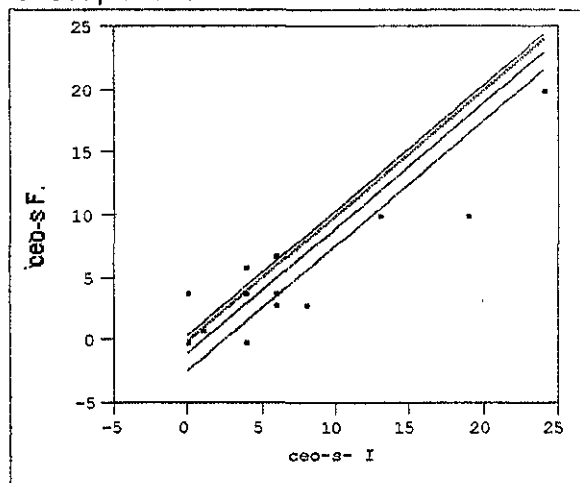
ceo-s F. por ceo-s- I



P>0.3092

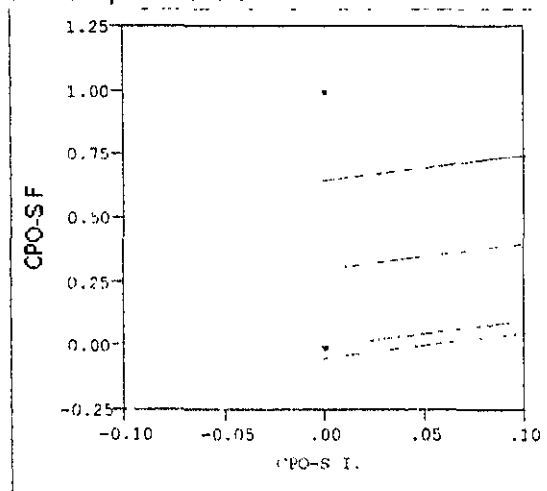
EDAD 9

ceo-s F. por ceo-s- I



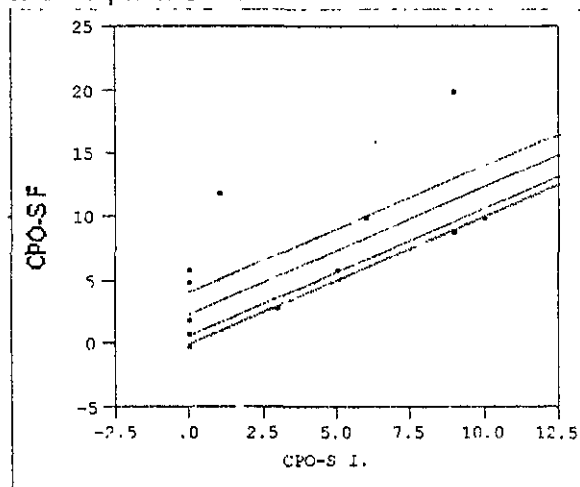
P>0.1823

CPO-S F por CPO-S I.



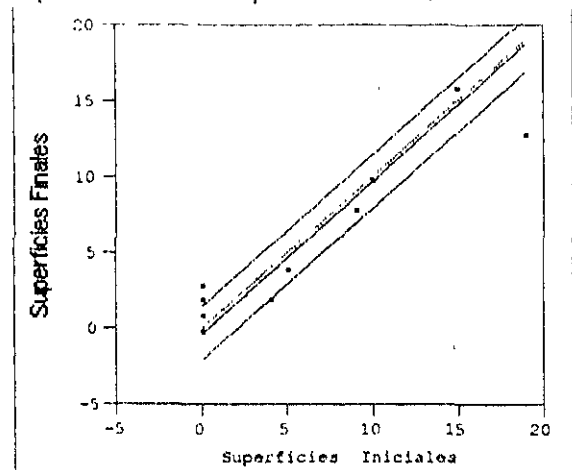
P>0.0811

CPO-S F por CPO-S I.



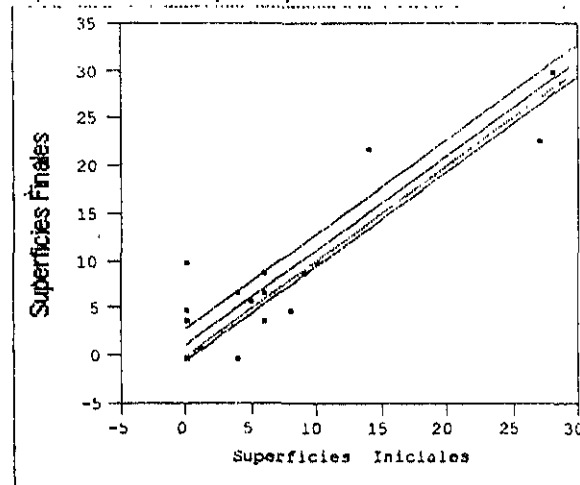
P<0.0093

Superficies Finales Superficies Iniciales



P>0.7128

Superficies Finales por Superficies Iniciales

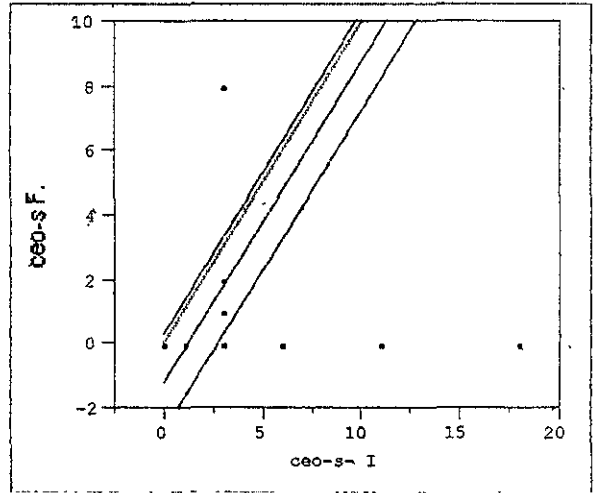


P>0.1516

Gráfica 5

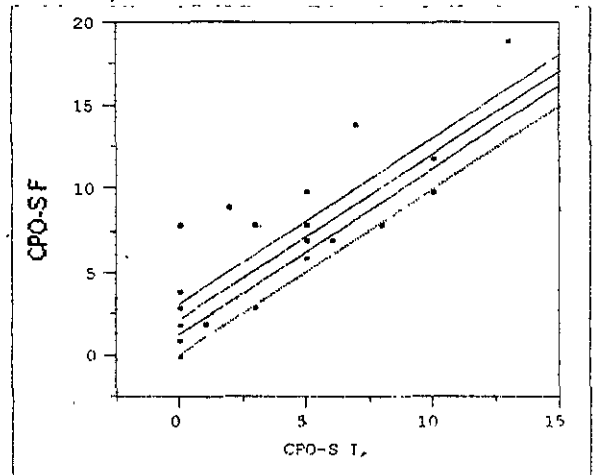
COMPARACIÓN CON "t" APAREADA DE LOS ÍNDICES INICIALES Y FINALES DE CARIES POR EDAD, UTILIZANDO COMO UNIDAD DE MEDIDA LA SUPERFICIE

EDAD 10
ceo-s F. por ceo-s I



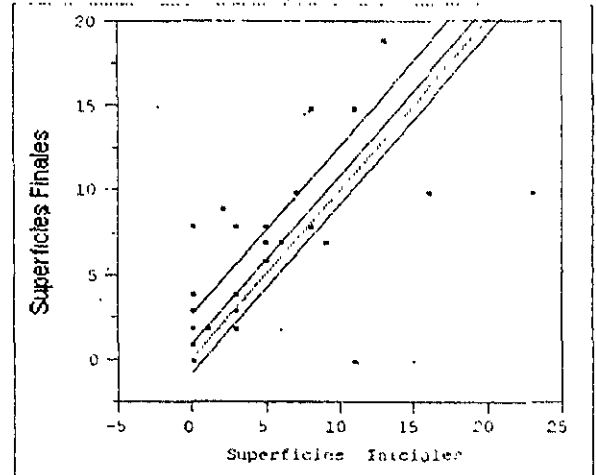
P>0.1060

CPO-S F por CPO-S I.



P<0.0000

Superficies Finales por Superficies Iniciales



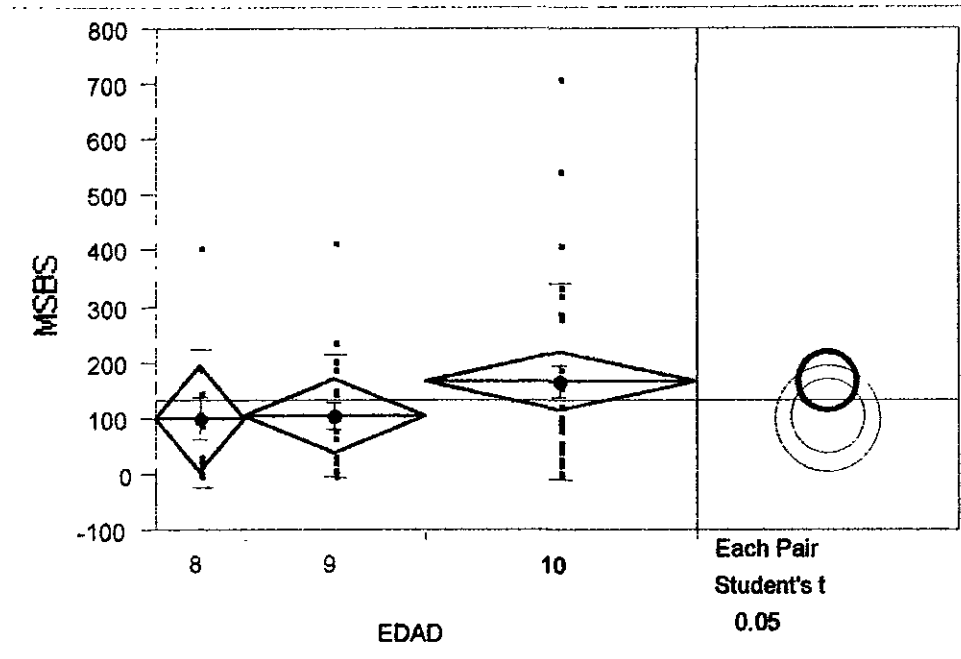
P>0.2885

Cuadro 4a. Promedio de *S. mutans* por edad, tipo de inóculo y medio de cultivo.

Edad	INOCULO ($\times 10^3$)				
	Medio	SALIVA		PLACA	
		MSB	TSY2OB	MSB	TSY2OB
8	103.20	335.20	1153.00	204.20	
9	105.00	563.40	1202.90	1607.60	
10	139.20	494.57	1669.20	1441.53	
GLOBAL	136.80	490.95	1394.40	1290.67	
Nivel de Significacia	0.2569	0.3311	0.7639	0.2896	

Gráfica 6

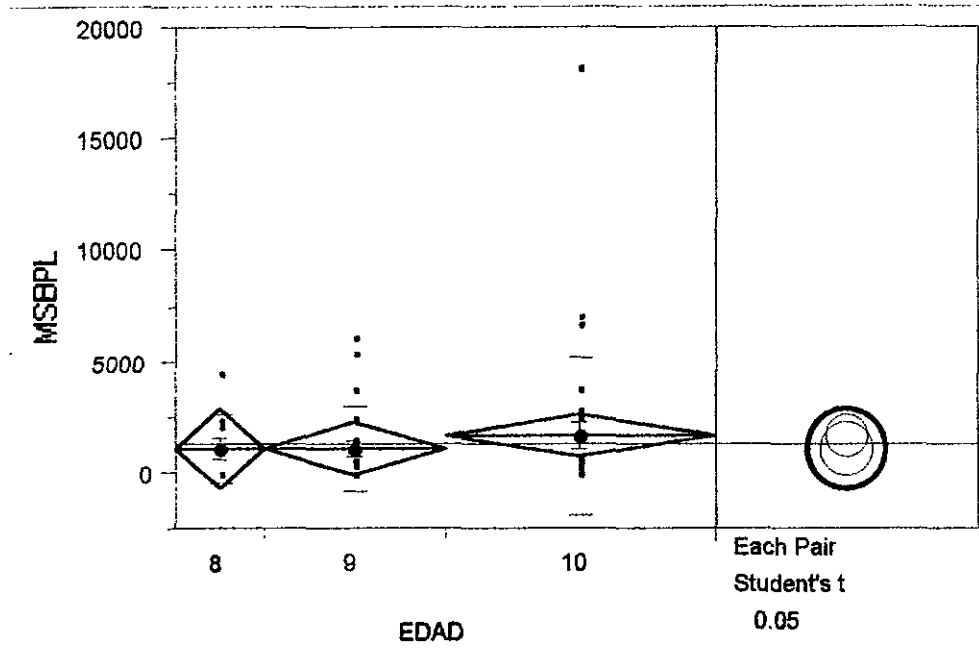
DISTRIBUCIÓN DE LAS UFC DE *S. mutans* SALIVAL EN EL MEDIO MSB POR EDAD



$R^2 = 0.05$

Gráfica 7

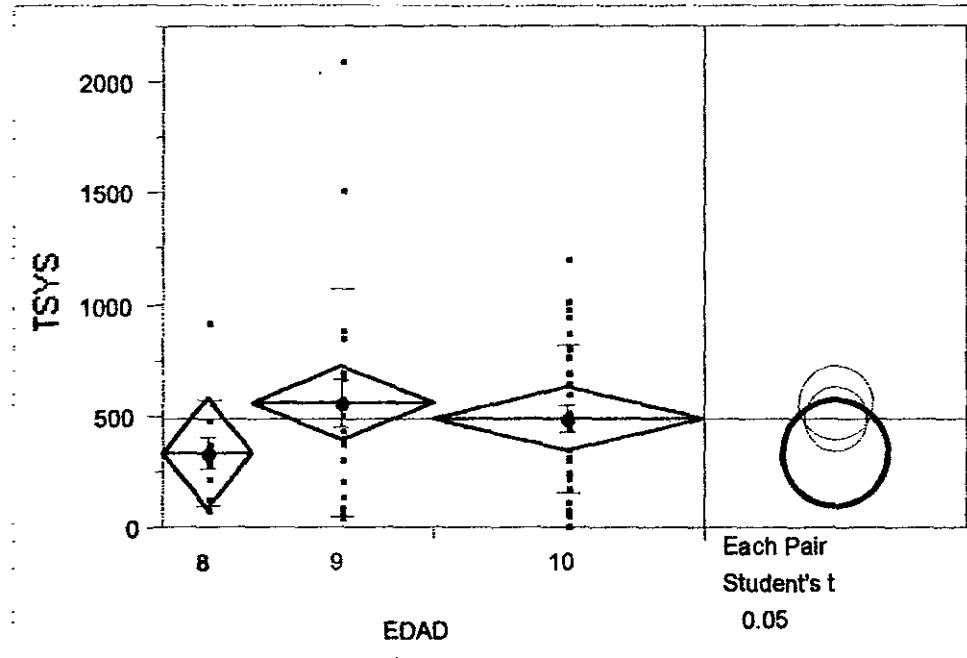
DISTRIBUCIÓN DE LAS UFC DE *S. mutans* DE PLACA DENTOBACTERIANA EN EL MEDIO MSB POR EDAD



$R^2 = 0.01$

Gráfica 8

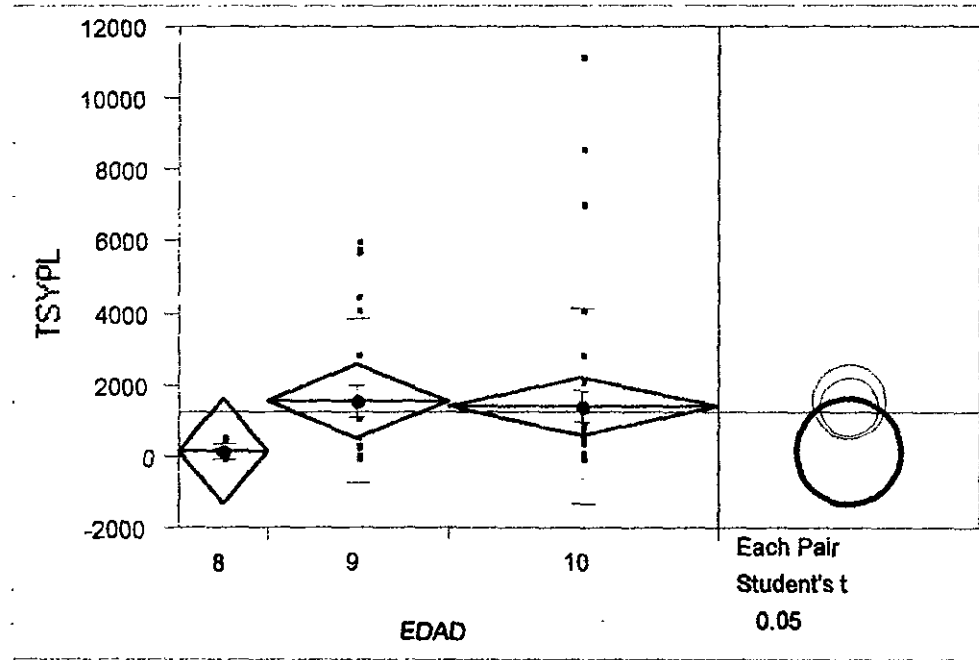
DISTRIBUCIÓN DE LAS UFC DE *S. mutans* SALIVAL EN EL MEDIO TSY20B POR EDAD



$R^2 = 0.04$

Gráfica 9

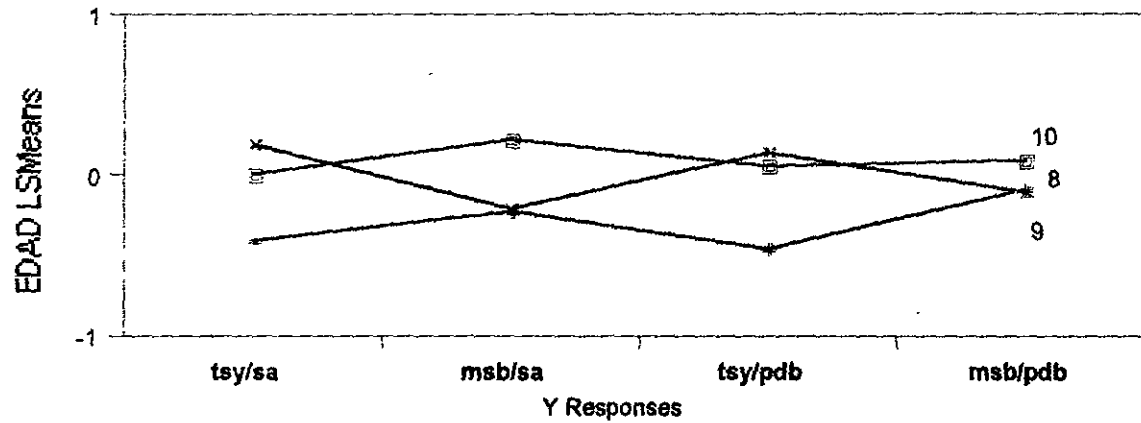
DISTRIBUCIÓN DE LAS UFC DE *S. mutans* DE PLACA DENTOBACTERIANA EN EL MEDIO TSY20B POR EDAD



$R^2 = 0.04$

Gráfica 10

CARACTERIZACION DE LA DISTRIBUCIÓN DE LOS BINOMIOS MEDIO/INOCULO EN LAS EDADES ESTUDIADAS



P>0.9588

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Clarke, JK.: On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *Br J Exp Pathol* 1924;5:141-147.
2. Keyes PH.: The infections and transmissible nature of experimental dental caries. *Arch. Oral Biol.* 1960; pp.304-310.
3. Fitzgerald RJ.: Dental caries research in gnotobiotic animal. *Caries Res.* 1968;2:139-146.
4. Fitzgerald RJ., Jordan, HV., Stanley, HR.: experimental caries an gingival pathologic changes in the gnotobiotics rats. *J Dent Res.* 1960;39:923-935.
5. Krasse B. and Carlsson, J.: Various types of *Streptococci* and experimental caries in hamsters. *Arch Oral Biol.* 1970;15:25-32.
6. Mikx FH. et al.: Establishment of defined microbial ecosystems in germfree rats. 1 effect to the interaction of *Streptococcus mutans* or *Streptococcus salivarius* with *Veillonella alcalences* on plaque formation and caries activity. *Caries Res.* 1972;6:211-221.
7. Russell C., Ahmed, FI.: Interrelationships between *Lactobacilli* and *Streptococci* in plaque formation on a tooth in artificial mouth. *J of Appl Bact.* Dec. 1978;45(3):373-382.
8. Kohler B., Pettersson BM., Bratthall, D: *Streptococcus mutans* in plaque and saliva and the development of caries. *Scand J of Dent Res.* 1981;89(1):19-25.
9. Featherstone JD. and Rodgers BE.: Effect of acetic, lactic and others acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res.* 1981;15:377-385.
10. Distler W. and Kroencke A.: The acid pattern of dental plaque. *J Dent Res.* 1983;62:87-93.
11. Arends J. and Ten Bosch J.: In Vivo and remineralization of dental enamel. edited by s. a. leach; edgar. n. m. (9eds): demineralization and remineralization of teeth. I. R. L. Press Oxford, England, 1983; pp. 1-16.
12. van Houte J., Sansone C., Kent RL.: Correlation between in vitro pH lowering potential of human plaque and proportion of *S. mutans* and highly acid tolerant non mutans. *J Dent Res* 1991;70,SI,pp544:2226
13. van Houte J. and Gibbons RJ.: Ecology of oral *lactobacilli*. *Infec Immun* 1972;6:723-729
14. Carlsson J., Grahén H., Jonsson G.: *Lactobacilli* and *Streptococci* in mouth of children. *Caries Res* 1975;9:333-339.
15. Carlsson P., Olson B., Bratthal D.: The relationship between the bacterium *Streptococcus mutans* in the saliva and dental caries in children in Mozambique. *Arch. Oral Biol.* 1985; 30:265-270.
16. Loesche WJ.: The identification of bacteria associated with periodontal disease and dental caries by enzymatic methods. *Oral Microbiol. Immunol.* 1:65-70, 1986 in: Clinical

Microbiology of Saliva: Clinical Chemistry and Microbiology. Florida, Vol. II CRC. Press. Inc. Boca Raton, 1987.

17. Matzukubo T. and Takaes Y.: Effects of salivary buffering capacity on plaque pH associated with *S. mutans*. J Dent Res. 1991;70:SI,pp403:1101
18. Gibbons RJ., Berman KS., Knoettner P., Kapsimalis B. : Dental caries and alveolar bone loss in gnotobiotic rats infected with capsule forming streptococci of human origin. Arch Oral Biol. 1966;11:549-560.
19. Fitzgerald RJ., Jordan HV., Stanley HR.: Dental caries in gnotobiotic rats infected with a variety of *Lactobacillus acidophilus*. Arch Oral Biol. 1966;11:473-476.
20. Rosen S., Lenny WS., O'Malley JE.: Dental caries in gnotobiotic rats inoculated with *Lactobacillus casei*. J Den Res. 1968;47:358-363.
21. Kelstrup HJ. and Gibbons RJ.: Induction of dental caries and alveolar bone loss by human isolate resembling *Streptococcus salivarius*. Caries Res. 1970;4:360-377.
22. Zickert I., Emilson CG., Krasse B.: *Streptococcus mutans*, *lactobacilli* and dental health in 13-14 years-old Swedish children. Community Dent Oral Epidemiol. 1982;10:77-81.
23. Arneberg P., Ogaard B., Scheie A.A., Rolla G.: Selection of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* in an intra-oral human caries model. J Dent Res. 1984;93(10):1197-1200.
24. Sims W. The interpretation and use of Snyder tests and Lactobacillus counts. J Am Dent Assoc. 1970;80:1315-1319.
25. Krasse B.: Can microbiological knowledge be applied in dental practice for the treatment and prevention of dental caries. J Canad Dent Assn. 1984;3:221-223.
26. Bratthall D. and Carlsson P.: Clinical microbiology of saliva: Clinical Chemistry and Microbiology. Vol II CRC Press. Inc. Boca Raton Florida, 1987.
27. Tenovuo JO.: Human saliva: clinical chemistry and microbiology Vol. II CRC. Press. Inc. Boca Raton Florida, 1987.
28. Ikeda T., Otake S., Hirasawa M., Williams K., Kiyono H., McGhee JR., Shiota T.: Virulence of *Streptococcus mutans*: revertants of mutant C4. Infect Immun. 1980;27:25-32.
29. Nesbitt WE., Doyle, RJ., Taylor KG.: Hydrophobic interactions and the adherence of *Streptococcus sanguis* to hydroxyapatite. Infect Immun. 1982;38:637-644.
30. Seppa L.: A scanning electron microscopic study of early subsurface bacterial penetration in human molar-fissure enamel. Arch Oral Biol. 1984;29:503-506.
31. Waugh LM.: Nutrition and health of the Labrador Eskimos with special reference to the mouth and teeth. J Dent Res. 1982;8:428-439.
32. Baume M.: Caries prevalence and caries intensivity among 12,344 schoolchildren of French Polynesia. Arch Oral Biol. 1969;14:181-205.
33. Harris R.: The biology of children of Hopewood House. Bowral V. Aust Dent J. 1963;8:521.
34. Gustafsson BE., Quensel CE., Lanke LS., Lunquist C., Grahnen H., Bonow, BE., Krasse, B.: The Vipeholm dental caries study. The effect of different levels of carbohydrate intake on

- caries activity in 436 individuals observed for five years. *Acta Odontol Scand.* 1954;11:232-364.
35. Zinner D., Jablon J., Aran M., Saslaw M.: Experimental caries induced in animals by *streptococci* of human origin *Proc Soc Exp Biol.* 1965;118:766-771.
 36. Keyes PH.: Research in dental caries. *J Am Dent Assoc.* 1968;76:1356-1373.
 37. Carlos JP. and Gittelsohn AM.: Longitudinal studies of the natural history of caries. *Arch Oral Biol* 1965;10:739-751.
 38. Michalek SM., McGhee JR., Navia JM.: Virulence of *Streptococcus mutans*; a sensitive method for evaluating cariogenicity in young gnotobiotic rats. *Infect Immun* 1975;12:69-75.
 39. Drucker DB., Shakespeare AP., Green RM.: The production of dental plaque and caries by the bacterium *Streptococcus salivarius* in gnotobiotic WAG/RIJ rats. *Arch Oral Biol.* 1984;29:437-443.
 40. Drucker DB., Shakespeare AP., Green RM.: In-vivo dental plaque-forming ability and relative cariogenicity of the bacteria *Streptococcus mitis* and *Streptococcus sanguis* I and II in mono-infected rats. *Arch Oral Biol.* 1984;29:1023-1031.
 41. Hamada S. and Slade HD.: Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev.* 1980;44:331-384.
 42. Hojo S., and Higuchi M.: Glucan inhibition of diffusion in plaque. *J Dent Res* 1976;55:169
 43. van Houte J., Russo J., Prostak KS.: Increased pH lowering ability of *S. mutans* cell masses associated with extracellular glucan rich matrix material and mechanism involved. *J Dent Res* 1989;8:451-459.
 44. Russel MW.: *S. mutans* cell surface antigenic determinants involved in adherence to saliva coated hidroxyapatita. *J Dent Res* 1993;72 SI.pp323:1758
 45. Patrikakis M., Harty DWS.: Co-agregation by Oral gram + bacteria. *J Dent Res* 1992;4:988;95
 46. Loesche WJ.: Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* 1986;50:353-380.
 47. Loesche WJ.: Dental caries: a treatable infection. Charles C. Thomas, Publisher. Springfield. 1982.
 48. Guggenheim B.: Extracellular polysaccharides and microbial plaque. *Int Dent J.* 1970;20:657-678.
 49. Hamada S., and Slade HD.: Synthesis and binding of glucosyltransferase and in vitro adherence of *Streptococcus mutans* grown in a synthetic medium. *Arch Oral Biol.* 1979;24:399-402.
 50. Newbrun E.: Polysaccharide synthesis in plaque, p. 649-664. In H. M. Stiles, W.J. Loesche, and T.C. O'Brien (ed), *Proceedings Microbial Aspects of Dental Caries* (a special supplement to *Microbiological Abstracts*, vol. 3). Information retrieval 1976, Inc., Washington, D.C.
 51. Walker GW.: Dextrans. *Int Rev Biochem.* 1978;16:75-126.

52. Bermane KS. and Gibbons RJ.: Lodophilic polysaccharide synthesis by human and rodent Oral flora. Arch Oral Biol. 1966;11:533-542.
53. Gibbons RJ. and Socransky S.: Intracellular polysaccharide storage by organisms in dental plaques. Arch Oral Biol. 1962;7:73-80.
54. Jenkins GN.: Salivary effects on plaque pH.p. 307-322. In I. Kelinberg. SA. Ellison. and ID. Mandel (ed.). Saliva and dental caries (supplement to Microbiology abstracts). Information retrieval. 1979. Inc. Washington, D. C.
55. Litelton NW., Kakahashi S., Fitzgerald RJ.: Recovery of specific caries inducing *streptococci* from carious lesions in the teeth of children. Arch Oral Biol. 1970;15:461-463.
56. Dibdin GH., and Shellis RP.: Physical and biochemical studies of *Streptococcus mutans* sediments suggest new factors linking the cariogenicity of plaque with polysaccharide content. J Den Res 1988;67:890-895.
57. Moreno EC., and Zaharadnik R.: Chemistry of enamel subsurface demineralization in vitro. J Dent Res 1974; 53.pp226
58. Stephan RM.: Intra-Oral hydrogen-ion concentrations associated with dental caries activity. J Dent Res. 1944;23:257-266.
59. Stephan RM.: The pH of the carious lesions. J Dent Res. 1945;24:202.
60. Kleinberg I. and Jenkins GN.: The pH of dental plaques in the different areas of the mouth before and after meals and their relation ship to the pH and rate of flow of resting saliva. Arch Oral Biol. 1964;9:493.
61. Nolte W.: Microbiología odontológica. Ed. Interamericana, México, D. F., 1994, 5a. ed.
62. Hume WR.: Need for change in standards of caries diagnosis. Perspective based on the structure and behaviour of the caries lesion. J Dent Res 1993;72.SI.pp106:17
63. Arends J. and Christoffersen J.: The nature of early caries lesions in enamel. J Dent Res 1986; 65:2-11.
64. Edman D., Keene H., Shklair I. Hoerman KC.: Dental floss for interproximal implantation and sampling of *Streptococcus mutans*. IADR Special Issue 51 Abstracts 57, 1972.
65. Gibbons RJ., DePaola PM., Spinelli DM., Skobe Z.: Interdental localisation of *Streptococcus mutans* as related to dental caries experience. Infect Immun 1974;9:481-488.
66. Shklair IL., Keen HJ., Simonsson LG.: Distribution and frequency of *streptococcus mutans* in caries-active individuals. In: Katz S.: Identificación de grupos de población con alto riesgo de caries. Su importancia en programas de salud pública. Rev. Asoc Odont Argent 1987;6:192-196.
67. Loesche WJ., Rowan J., Straffon LH., Loss P.: Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. Infect Immun 1977;17:55-61.
68. Zickert I., Emilson CG., Krasse B.: Correlation of level and duration of *Streptococcus mutans* infection with incidence of dental caries. Infect Immun 1983;39:982-985.

69. Ikeda T., and Sandham HJ.: Prevalence of *Streptococcus mutans* on various tooth surfaces in Negro children. Arch Oral Biol. 1971;16:1237-1240.
70. Kleinberg I.: Formation and accumulation of acid on the tooth surface. J Dent Res. 1970;49:1300-1303.
71. Ikeda T., Sandham HJ., Bradle EL. Jr.: Changes in *Streptococcus mutans* and *lactobacilli*, in plaque in relation to the initiation of dental caries in Negro children. Arch Oral Biol. 1973; 18:555-66.
72. Vanderas AP.: Bacteriologic and non-bacteriologic criteria for identifying individuals at high risk of developing dental caries: a review. J Public Health Dent 1986;46:106-113.
73. Swenson J.I., Liljemark WF., Schuman LM.: A longitudinal epidemiological evaluation of the association between the detection of plaque *streptococci* and development of dental caries in children. Stiles L. O'Brien (eds) Spec. Supp. Microbiology Abstracts, In Proceedings microbial aspects of dental caries. 1976;1:211-222.
74. Klock B. and Krasse B.: Microbial and salivary conditions in 9 to 12 year-old children. Scand J Dent Res. 1977;85:56-63.
75. Klock B. and Krasse B.: A comparison between different methods for prediction of caries activity. Scand J Dent Res. 1979;87:129-139
76. Rundegren J. and Ericson T.: Actual caries development compared with expected caries activity. Community Dent Oral Epidemiol. 1978;6:97-102.
77. Newbrun E., Matzukubo T., Hoover IC., Graves RC., Brown AT., Disney TA., Bohannon HM.: Comparison of two screening tests for *Streptococcus mutans* and evaluation of their suitability for mass screenings and private practice. Community Dent Oral Epidemiol. 1984;12:325-331
78. Hoerman KC.: The association of *Streptococcus mutans* with early carious lesions in human teeth. J Am Dent Assoc. 1972;85:1349-1352.
79. Slotz J. and Taubman MA.: Contemporary Oral microbiology and immunology. Edit. Mosby yearbook Inc. 1992.
80. Gold OG., Jordan HV., Houte J.: A Selective medium for *Streptococcus mutans*. Arch Oral Biol. 1973;18:1357-1364.
81. Schaeken MJM., van der Hoeven JS., Franken HCM.: Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on five isolation media, including a new simple selective medium. J. Dent. Res. 1986;65:906
82. Matzukubo T, Ohta K, Maki Y, Takeuchi M, Takazoe I.: A semi-quantitative determination of *Streptococcus mutans* using its adherent ability in a selective medium. Caries Res. 1981; 15:40-45.
83. Kalfas S., Edwardsson S., Birkhed D.: Determination of salivary *Streptococcus mutans* level in stable sucrose-sulphasomidine-containing broth. Caries Res. 1985;19:320-326.
84. Rogosa M., Mitchel, JA., Wiseman R.: A selective medium for the isolation and enumeration of oral *lactobacilli*. J Dent Res 1951;30:682-689.
85. World Health Organisation. 1987. Oral health surveys. Basic methods. 3rd ed. Geneva WHO.

86. World Health Organisation. 1994. Dental caries levels at 12 years. Geneva WHO.
87. Snyder ML.: Laboratory methods in the clinical evaluation of caries activity. J Amer Dent Assoc 1951;42:400-413
88. Loesche WJ., Straffon LH.: Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. Infect Immun 1979;26(2):498-507
89. Burt BA, Loesche WJ., Eklund SA., Earnest RW.: Stability of *Streptococcus mutans* and relationship to caries in a child population over 2 years. Caries Res 1983;17:532-542.
90. Burt BA, Loesche WJ, Eklund SA.: Stability of selected plaque species and their relationship to caries in a child population over 2 years. Caries Res 1985;19:193-200
91. Moller AJR.: Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies Odont Tidskir 1996; 74(special article) .
92. Larmas M.: Saliva and dental caries: diagnostic tests for normal dental practice. Int Dent J. 1992;42:199-206
93. Walter R. G., Shklair IL.: *Streptococcus mutans* in caries free and caries active naval recruits. J. Dent. Res.1982; 61(11):1229-1232
94. Sánchez L., Alfaro P.: Experiencia de caries como indicador predictivo de su futuro incremento. Efecto del alto y bajo riesgo. Rev Colegio Nal de Cirujanos Dentistas, 1994:1(2):22-29.
95. Sánchez L., Sáenz L., Tomasis J.: Experiencia de caries como indicador de riesgo para la dentición permanente. Reporte a un año. Rev Odonto Dosmil 1994:2(10):3-7.
96. Sánchez L., Sáenz L., Tomasis G., Irigoyen M., Molina N.: Caries dental en la dentición temporal como indicador de riesgo para la dentición permanente. Estudio a dos años", Acta Odontol Venez. 1995:33 (2):15-20.
97. Irigoyen M. Villanueva R., de la Teja E.: Dental caries status of young children in suburban community of Mexico city. Community Dent Oral Epidemiol 1986;14:306-309.
98. Irigoyen M, Molina N., Villanueva R, López S.: Changes in dental caries indexes in school children in an area of Xochimilco, México: 1984-1994", Salud Pub Mex, 1995:37(5):430-436.
99. Sánchez-Perez L., Sáenz - Martinez L., Gómez- López M.E., Pérez-Quiroz J., Márquez García. LA.: Seguimiento de la resistencia del esmalte a la disolución ácida y la incidencia de caries dental. Arch Odontoestomatología Prevent Comumnit 1995; 11(11): 686-694.
100. Sánchez-Pérez TL.: Caries dental en la zona sur del D.F. *Pract Odontol*1987;2:25-30.
101. Vehkalahti M, Nikula Sarakorpi E, Paunio I.: Evaluation of salivary test and dental status in the prediction of caries increment in caries susceptible teenagers increment. Caries Res 1996;30 (1): 22-28.
102. Emilson C. G., Axelsson P., Kallenberg L. : Effect of mechanical and chemical plaque control

- measures on oral microflora in schoolchildren. Community dent. Oral Epidemiol. 1982;10: 111-116
103. Stecksén-Blicks C.: Salivary Counts of lactobacilli and *Streptococcus mutans* in Caries Prediction. Scand J Dent Res 1985;93:204-212.
 104. Klock B., Emilson G., Lind SO., Gustavsdotter M., Westrelund AM.: Prediction of caries activity in children with today's low caries incidence. Community Dent. Oral Epidemiol. 1989; 17:285-288.
 105. Lindquist B., Emilson C.G.: Distribution and prevalence of mutans streptococci in the human dentition. J. Dental Res. 1990;60: 1160-6.
 106. Bolin A. K., Bolin A., Kock G.: Children's dental health in Europe caries experience of 5 and 12 years old children from eight E.U. countries. J Pediatric Dent 1996;3(3):155-62.
 107. Shklar I. L., Kenne H. J., Cullen P.: The distribution of *Streptococcus mutans* on the teeth of two groups of naval recruits. Archs. Oral. Biol. 1974;19:199-202
 108. Borgström M.K., Sullivan A., Granath L., Nilsson G.: On the pH lowering potential of lactobacilli and mutans streptococci from dental plaque relates to the prevalence of caries. Community Dent Oral Epidemiol. 1997;25:165-169.
 109. Kræse B, Jordan HV, Edwardsson S, Svensson I, Trel L.: The occurrence of certain caries inducing streptococci in human plaque material. Archs oral Biol 1968;13:911-918.
 110. Sullivan A., Hector M., inconsistent levels of mutans streptococci and lactobacilli measured in stimulate whole saliva. Europe J. Oral Sci. 1995;30:305-26
 111. Sullivan A, Borgström MK, Granath L, Nilsson G.: Number of mutans streptococci or lactobacilli in a total dental plaque sample does not explain the variation in caries better than the numbers in stimulated whole saliva. Commun Dent Oral Epidemiol 1996;24:159-163.
 112. Sullivan A, Granath L, Widenheim J.: Correlation between child caries incidence and S. *mutans* / Lactobacilli in saliva after correction for confounding factors. Commun. Dent Oral Epidemiol
 113. Granath L., Cleaton Jones P., Fatti P., Grossman E.: Correlation between caries prevalence and potential etiologic factors in large samples of 4-5 yr. old children. Community Dent Oral Epidemiol. 1991;19:257-260.
 114. van Houte J, Aasenden R, Peebles TC: Oral colonisation of *Streptococcus mutans* in human subjects with low caries experience given fluoride supplements from birth. Archs oral Biol. 1978;23:361-366.
 115. Mundorff SA, Eisenberg AD, Leverett DH, Espeland MA, Proskin HM: Correlation between numbers of microflora in plaque and Saliva. Caries Res 1990;24:312-317
 116. Sheackn MJM, Creugers TJ, van der Hoeven JS: Relationship between dental plaque indices and bacteria in dental plaque and those in saliva. J Dent Res. 1987;66(9):1499
 117. Svanberg M, Kræse B: Comparative recovery of mutans streptococci on two selective media. Caries Res 1990;24:36-38.
 118. Zoitopoulos L., Brailsford SR., Gelbier S., Ludford RW., Marchant SH., Beigton D.: Dental

- caries and caries associated micro-organisms in the saliva and plaque of 3 and year old Afro Caribbean and caucasian children in south London. *Archs Oral Biol.* 1997;41:1011-1018.
119. Beighton D., Manji F., Baelum V., Fejerskov O., Johnson N W., Wilton M A.: Association between salivary levels of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacilli* and caries experience in Kenian adolescents. *J. Dental Res.* 1989;68(8): 1242-6.
120. Roeters FJ., van Der Hoen JS., Burgersdijk RC., Shaecken MJ.: *Lactobacilli*, *mutans streptococci* and dental caries: a longitudinal study in 2 year old children up to the age of 5 years. *Caries Res.* 1995; 29(4): 279-9.
121. Beighton D: A simplified procedure for estimating the level of *Streptococcus mutans* in the mouth. *Br Dent J* 1986;160:329-330.
122. Alaluusua S., Renkonen OV.: *Streptococcus mutans* establishment and dental caries experience in children from 2 to 4 years old. *Scand J Dent. Res.* 1983; 91:453-457.
123. Scheie AA, Selikowitz HS, Ameberg P: A comparison of *S. mutans* prevalence in relation to caries experience in Norwegian and immigrant Vietnamese children. *J Dent Res.* 1984;63(12):1383-1386
124. Teanpaisan R., Kintara S., Chuncharoen C., Akkayanont P.: *Mutans streptococci* and dental caries in schoolchildren in Southern Thailand. *Community Dental Oral Epidemiol* 1995; 23: 317-8.
125. Kohler B., Peterson B.M., Bratthall D.: *Streptococcus mutans* in plaque and saliva and development of caries. *Scand. J. Dent Research* 1981;89:1925
126. Krasse B., Jordan H.V., Edwardsson S., Svensson I., Trelle L.: The occurrence of certain caries inducing streptococci in human dental plaque material. *Arch. Oral. Biol.* 1968;13: 911-918
127. Thibodeau EA., Sullivan MO.: Salivary *mutans streptococci* and incidence of caries in pre-school children. *Caries Research* 1995;29:148-153.
128. Gibbons RJ, dePaola PF, Spinell DM, Skoebé Z.: Interdental localisation of *Streptococcus mutans* as related to dental caries experience. *Infect Immun* 1974;9:481-488.
129. van Palenstin H, Ijssedijk M, Huis JHJ, Veld IT: A selective medium for the two major subgroups of bacterium *Streptococcus mutans* in human dental plaque and saliva. *Arch. Oral. Biol.* 1983;28(7): 599-603.
130. Matee, M.L.; Mikx, F.H.M.; Frencken, J.E.F.N.; Truin G.J.; Ruicken, H.M.: Selection of a micromethod and its use in the estimation of salivary *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* counts in relation to dental caries in Tanzanian children. *Caries Res* 1985;19:497-506.
131. Leverett DH, Proskin HMM, Featherstone JDB, Adair SMM.: Development of a model for discriminating dental caries status. *J Dent Res.* (special issue) 1988;67:338.
132. Kilian M., Reinholdt J., Nyvad B., Frandsen E. V., Mikkelsen L.: Ega1 proteases of oral streptococci ecological aspects. *Imunol invest* 1989;18(1-4):161-170.
133. Nyvad B., Fejerskov O.: Active and inactive root surface caries - structural entities? In Thylstrup A., Leach Sa Qvist V, *Dentine and Dentine reactions in The oral cavity.* Oxford: IRL Press. 1987:165-169

134. Nyvad B., Killian M.: Microflora associated with experimental root surface caries humans. *Infect Immun* 1990; 58:1628-33.
135. Ikeda T, Sandham HJ: A medium for recognition and enumeration of *Streptococcus mutans*. *Archs oral Biol* 1972;17:601-604
136. Sansone C., van Houte J., Joshioura K., Kent R., Margolis HC.: The association of mutans streptococci and non mutans streptococci at a low pH with dental caries on enamel and root surfaces. *J. Dent Res.* 1993; 72(2):508-516.
137. Keene HJ., Shklair I.L., Hoerman K.C.: Caries immunity in naval recruits and ancient Hawaiians in comparative immunology of the oral cavity, Copenhagen SE. And Scherp H.W. Eds., DHEW. Publication 1973 ;73- 478: 71-117.
138. Huis V, Bonnet D., von Palentine W., Camargo PS., Backer DO.: Antibodies against *Streptococcus mutans* and glucosyl - transferases in caries free and caries active military Recruits in advances in experimental medicine and biology. 1978; 107:369-381
139. Camling E., Emilson C.G.: Results with the caries activity test compared to prevalence of mutans streptococci and lactobacilli. *Swed Dent J.* 1989;13(4):125-130
140. Crossner CG.: Salivary *Lactobacillus* counts in the prediction of caries activity. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1981; 9: 182-90.
141. Holbrook W. P., Soet J.J. Graaff J.: Prediction of dental caries in pre - School children. *Caries Res.* 1993;27:424-430.
142. Leverett D. H., Proskin H. M., Featherstone J. D. B., Adair S. M., Eisenberg A. D., Mundorffshrestha S. A., Shields C. P., Shaffer C. L.: Billings R. J. Caries risk assessment in a longitudinal discrimination study. *J. Dent. Res.* 1993; 72(2): 5-538-543.
143. Disney JA, Graves RC, Stamm JW, Bohannon HM, Abernathy Jr.: The University of North Carolina caries risk assessment study. II Baseline caries prevalence. *J. Public Health Dent* 1990; 50: 178-85
144. Graves RC, Abernathy Jr, Disney JA, Stamm JW, Bohannon HM.: The University of North Carolina caries risk assessment study .III Multiple Factors in Caries Prevalence. *J Public Health Dent* 1990; 50:485-93
145. Disney JA, Graves RC, Stamm JW, Bohannon HM, Abernathy JR, Zack DD.: The University of North Carolina caries risk assessment study: further developments in caries risk prediction. *Community Dent Oral Epidemiol* 1992; 20:64-75.
- 146.-Breck JD, Weintraub JA, Disney JA, graves RC, Stamm JW, KasteLM, Bohannon HM, : University of north Carolina caries risk assessment study comparisons of high risk prediction, and risk etiologic models. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1992;20: 313-321.
147. Alaluusua S, Malmivirta R.: Early plaque accumulation a sign for caries risk in young children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1994;22: 273-6

148. Seppä L., Pöllänen L., Hausen H.: *Streptococcus mutans* obtained by a dip - slide method in relation to caries frequency, sucrose intake and flow rate of saliva. *Caries Res.* 1988; 22: 226-229.
149. Krasse Bo.: *Caries Risk*. Quintessence publishing Co. Inc. Chicago Illinois. 1985.
150. Abernathy JR, Graves RC, Bohannon HM, Stamm JW, Greenberg BG, Disney JA.: Development and application of a prediction model for dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 1987; 15: 24-8.
151. Bibby BG, Shern RJ.: *Methods of caries prediction*. *Microbiol Abst (Spec Suppl)* 1978.
152. Crossner C.G., Holm A.K.: *Saliva Tests in the Prognosis of Caries in Children*. *Acta Odontol Scand.* 1977;35:135-139.
153. Rise J, Birkeland J, Haugejorden O, Blindheim O, Furevik J.: Identification of High caries risk children using prevalence of filled surfaces as predictor variable for incidence. *Community Dent Oral Epidemiol* 1979; 7: 340-5.
154. Honkala E, Nyyssonen V, Kolmakow S, Lammi S.: *Factors Prediction caries risk in children* *Scand J. Dent Res.* 1984; 92: 134-40
155. Hunter P.: *Risk factors in dental caries*. *Int. Dent J* 1988; 38: 211-7.
156. Kock G.: *Importance of early determination of caries risk*. *Int. Dent. J.* 1988; 38: 203-10
157. Federation Dentaire International: *Technical Report No. 31. Review of methods of Identification of high caries risk groups and individuals*. *Int. Dent. J.* 1988; 38: 177-89
158. Alaluusua S., Klemola - Kujala E., Nyström M, Grönroos A.: *Caries in the primary teeth and salivary Streptococcus mutans and Lactobacillus levels as indicators of caries in permanent teeth*. *Pediatric Dent* 1987;9:126-130.

14. ANEXOS**ANEXO 1****ELECCIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO PARA *S. mutans* EN UNA EVALUACIÓN CUANTITATIVA**

Los medios de cultivo son variados y van desde las técnicas más sencillas, hasta las más complejas en cuanto a facilidad de manejo y costo. A continuación se describen las más confiables.

- MS-Agar (Difco, Detroit Mich. U.S.A.)

Se usa agar mitis salivarius para la determinación del *S. mutans* y su identificación se basa en la morfología de las colonias.

- MC-Agar (Carlsson 1967)

Se basa en un medio selectivo de MS-Agar. Contiene 5% de sacarosa y 0.1% de Sulfasomidine, lo que lo convierte en un medio de cultivo selectivo. Algunos *S. sobrinus* logran su crecimiento. El *S. mutans* serotipo a/g no logra su crecimiento en este cultivo.

-MSB (Gold, Jordan y Van Houte 1973)

Se basa en MS-Agar contiene bacitracina (0.2 u/ml) y 20% de sacarosa para hacerlo selectivo al *S. mutans*. El *S. cricetus* y el *S. mutans* serotipo a, no crecen en este cultivo.

- BCY (Ikeda y Sandham 1972)

Contiene lasilone-cisteina-hidrocloride y 5% de sangre de caballo. La identificación del *S. mutans* se basa en la morfología de las colonias.

- MM10-SACAROSA (Syed and Loesche 1972)

Es un medio no selectivo, contiene Trypticase, extracto de levadura, más 5% de sacarosa, 2% de sangre de caballo. El *S. mutans* se identifica sobre la base de la morfología de sus colonias.

- TYCSB (Palenstein, Helderman, et al., 1983)

Medio que se basa en TYC agar modificado y contiene 0.1 u de bacitracina/ml y 20% de sacarosa. El serotipo A no crece; posibilita la diferenciación entre serotipos *c/ef* y *d/g* pero no entre el *b* y *c/ef* basándose en la morfología de sus colonias.

- Medio Selectivo de acuerdo a Matzukubo y Col. (1981)

Consiste en un caldo de MSB al que se le agrega saliva. Los tubos tienen que ser mantenidos a 60 grados de inclinación a 37 grados centígrados. El *S. mutans* crece y se adhiere a las paredes del tubo donde se hace el recuento. El serotipo A no crece en este medio.

- Medio Selectivo de Kalfas et al. (1985)

Es una modificación del MC-Agar y el método de Matzukubo, usando caldo de soya trypcase, al que se le agrega 20% de sacarosa y sulfasomide de sodio 200 mg/ml, los tubos tienen que ser mantenidos a una inclinación de 40 grados. El recuento se realiza con relación al crecimiento de *S. mutans* adherido al tubo.

- Dentocult - SM (Orion Diagnóstica Helsinki Finland 1984)

Es un método de película sumergible. El agar es distribuido en un soporte plástico que está conectado a una tapa con rosca plástica que penetra en un tubo. En este tubo el agar está protegido de la evaporación durante la incubación y almacenaje. La película sumergible está elaborada para estar inmersa en el medio. La saliva es recolectada y se introduce la película sumergible en la saliva para que cubra todas las superficies del agar, permitiendo que el exceso de saliva escurra. Se aplican los discos de bacitracina a las superficies del agar. Sólo el *S. mutans* crece, el serotipo A no es viable en este medio de cultivo.

- TSY2OB (Shaeken et al. 1986)

Se dice que este medio tiene las mismas cualidades que el TYCSB pero es menos laboriosa su preparación. Consiste en Trypcase, agar soya, agar bacto, extracto de levadura, 20% de sacarosa y 200 IE de bacitracina por litro, y suplementado con 0.2u/ml.

- Strip mutans (Bratthall and Jensen 1988)

Los discos de bacitracina se añaden 15 minutos antes de ser usados. Se introduce una tira de plástico para contaminar con saliva y es incubada en un caldo, cuya composición es similar al del agar mitis salivarius pero con un alto contenido de sacarosa. La selectividad se basa en dos características, adherencia y resistencia a la bacitracina.

¿QUE MEDIO SELECTIVO SE DEBE UTILIZAR?

¿Qué medio de cultivo se debe utilizar para el *S. mutans*, ante la diversidad de los medios que hemos descrito?

Cualquiera de ellos puede ser usado cuando se tiene acceso a laboratorios de microbiología y sólo 4 medios se han desarrollado para ser usados en el consultorio, todos ellos de tipo cualitativo. Esta selección de medios es: Matzukubo y Col., Kalfas y Col., Dentocult-SM y Strip mutans.

Estas técnicas se basan en la aproximación al recuento microbiano que permite inferir la cantidad de microorganismos presentes y por lo tanto el grado de infección bucal como indicador riesgo a la caries, la convergencia para estas técnicas se ha establecido por diversos autores en $>10^3$, 10^4 , 10^5 y $\leq 10^6$.

Cuando se utilizan platos con agar, el método tradicional es diluir una muestra de saliva total estimulada un cierto número de veces (usualmente 10, 100 y 1000 veces) y después inocular las placas con 100 microlitos de la muestra, se contabiliza el número de UFC y la concentración original se basa en multiplicar el número de UFC por el factor de dilución utilizado, incluyendo la probable dilución de muestras de placa en el medio de transporte que haya sido utilizado.

Este tipo de procedimientos implica una serie de pasos que incluyen las siguientes etapas: tubos de ensaye estériles para obtener la saliva, tubos de ensaye con soluciones buffer para realizar las disoluciones, pipetas automáticas de puntas intercambiables y platos con los medios selectivos. Por lo que se han desarrollado, métodos simplificados, como los ya descritos, como una aproximación a la cantidad de UFC.

Referencia: Tenovuo JO. Human saliva: Clinical chemistry and microbiology. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 1987

ANEXO 2**COMUNICADO A LOS PADRES DE FAMILIA EN REUNIÓN EN LA ESCUELA.**

ESTIMADOS PADRES DE FAMILIA:

Nos permitimos dirigirnos a ustedes para solicitar su cooperación, en la investigación que se pretende llevar a cabo por la Facultad de Odontología de la U.N.A.M. a través de la División de Estudios de Posgrado y de la Clínica de Tláhuac, relacionando el estado de salud bucal de los niños con el nivel de infección que presentan de las bacterias que son consideradas como cariogénicas.

Por lo que es de suma importancia que ustedes nos permitan examinar a su hijo(a); la revisión de los dientes es muy sencilla y no dolorosa, utilizando instrumentos estériles y guantes desechables, se observan los dientes de los niños y además se recolectan unos mililitros de la saliva de sus niños en un tubo de ensaye estéril.

El objetivo de esta investigación, es el de crear programas de prevención dirigidos a todos los niños de las Escuelas Públicas Federales, con el fin de controlar tanto la caries como la pérdida prematura de los dientes.

El examen dental y la muestra de saliva será recolectada desde el mes de Noviembre, en un aula de la escuela a la que asisten sus niños y nosotros le avisaremos la fecha exacta en que revisaremos a su hijo(a).

Esperamos contar con su apoyo, ya que ustedes son una de las partes más importantes en la educación y prevención sobre enfermedades orales en sus hijos.

Atentamente

C.D. Leonor Sánchez Pérez.

Vo.Bo. Director(a) de la Escuela

ANEXO 3**DETERMINACION DE LA EXPERIENCIA CARIOGENICA**

1o. El examen es realizado para determinar la clasificación de dientes o espacios dentales, ya que en este caso en particular los terceros molares son excluidos del sistema, por dos razones:

A) Las encuestas realizadas en escolares menores de 15 años de edad (el grupo más comúnmente estudiado) el registrar estos 4 espacios adicionales, ofrece un número pequeño de información para el examinador.

B) En encuestas a adultos jóvenes, de 15 a 25 años, las variaciones en el patrón de erupción y las frecuentes extracciones, debidas a múltiples razones no relacionadas al ataque del proceso carioso, dificultan la clasificación adecuada de estos dientes. Ni siquiera un cuestionario cuidadoso del paciente ofrece siempre una base segura para que el dentista alcance una conclusión confiable.

2o. Este sistema de clasificación, para el cálculo del índice CPO, incluye el componente (C) todos los dientes con los códigos 1 y 2. El componente (P) comprende los dientes con el código 4 para sujetos menores de 30 años y los dientes con los códigos 4 y 5 para sujetos mayores de 30 años. El componente (O) incluye dientes solamente con el código 3.

Los datos serán reportados basándose en 28 dientes por ser una investigación en niños menores de 15 años.

Para el cálculo del índice ceo, el componente (c) incluye los dientes con los códigos B y C, el componente (e) comprende los dientes con el código E. El componente (o) incluye solamente el código D.

3o. Un criterio separado para un diente al mismo tiempo cariado y obturado no es utilizado. Ha sido costumbre, cuando la categoría CO ó co es usada, en contar estos dientes como C ó c respectivamente. La información adicional describiendo dientes cariados, que fueron obturados en alguna época anterior, parece ser limitada en la mayoría de las encuestas CPO.

4o. El código y el sistema de clasificación, no incluyen un método para obtener datos estadísticos sobre otras afecciones orales que pueden ser observadas durante la encuesta CPO. Si esos datos son necesarios deben ser utilizados, una clasificación separada y un sistema de registro diferente.

5o. Los códigos usados en esta clasificación son valores numéricos y alfabéticos seleccionados, porque son fáciles de aprender y de siendo fáciles de tabular manual o mecánicamente.

Los números y las letras son también diferentes en sonidos cuando son dictados verbalmente, y por consiguiente más fáciles de distinguir por el anotador. Sin embargo, pueden utilizarse otros tipos de códigos.

CRITERIOS PARA EXÁMENES Y REGLAS PARA SU REGISTRO

Código D. Permanentes Condición Código D. Temporales

0	Sano	A	
1	Cariado	B	
2	Obturado con Caries		C
3	Obturado sin Caries		D
4	Perdido por Caries		E
5	Perdido por otra Razón	-	
6	Sellador	F	
7	Prótesis	G	
8	Sin Erupcionar		-
9	Excluido	-	
w	Con Lesión Blanca		-

DESCRIPCIÓN DE LOS CRITERIOS

0 (A).- DIENTE SANO. Un o.d. se registra como sano si no muestra evidencia de caries ya sea tratada o sin tratar. Los estadios de caries que preceden a la cavitación, así como otras condiciones similares de caries tempranas, son excluidos, porque no pueden diagnosticarse con certeza. Si el diente tiene algún defecto en el esmalte o dentina, que no se relacione con caries dental se clasifica con el código (O). Los o.d. con los siguientes defectos deberán ser codificados como sanos:

- fasetas y fisuras pigmentadas en el esmalte, en que el explorador no detecte un piso reblandecido, esmalte socavado, o reblandecimiento de las paredes.
- Areas del esmalte oscuras, brillosas, duras o socavadas que muestren signos de fluorosis moderada o severa.

- Manchas blancas o amarillentas.
- Manchas decoloradas o ásperas.

TODAS LAS LESIONES CUESTIONABLES SERÁN CODIFICADAS COMO SANAS

1 (B).- **DIENTE CARIADO.** Se registra un diente cariado cuando se presenta una lesión en fosetas y fisuras o bien en superficies lisas donde se detecta un piso reblandecido, esmalte socavado o paredes reblandecidas. Un o.d. con una restauración temporal, se clasificará como CARIADO. En superficies proximales, es necesario que el explorador penetre en la lesión con certeza.

CUANDO EXISTA DUDA NO SE CLASIFICARA COMO CARIADO.

2 (C).- **DIENTE OBTURADO CON CARIES.** Este código se registrará cuando se presentan una o más restauraciones definitivas, en una o más áreas dentales con presencia de caries. No hay distinción entre caries primaria y secundaria.

3 (D).- **DIENTE OBTURADO SIN CARIES.** Se considera a los o.d. obturados sin caries, cuando hay presentes una o más restauraciones permanentes y no existe caries secundaria

u otra área del diente con caries primaria. Un diente en el que se ha colocado una corona debido a la presencia de caries, se le clasifica como obturado. Si se le ha colocado una corona debido a otras razones por ejemplo: trauma, pilares protésicos se anotará como código 7 (G).

4 (E).- **DIENTE PERDIDO POR CARIES.** Este código será utilizado para dientes primarios y permanentes que fueron extraídos debido a caries. Para los dientes primarios se tomará en cuenta si el sujeto está en edad de la exfoliación normal y no hay explicación que fundamente la ausencia del o.d.

SE APLICA EN NIÑOS MENORES DE 9 AÑOS.

5.- **DIENTE PERMANENTE PERDIDO POR OTRA RAZÓN.** Este código será utilizado para anotar cuando un o.d. permanente se cree tiene ausencia congénita o ha sido extraído por razones ortodónticas o por trauma.

6 (F) **DIENTE CON SELLADOR.** Este código es usado para dientes en cuyas fisuras se colocó sellador en la superficie oclusal, o en dientes cuyas fisuras oclusales han sido fresadas y preparada una cavidad para colocar una resina. Si un diente con sellador tiene caries, se codifica como 1 cariado.

7 (G).- **DIENTE DE PUENTE DE APOYO O CORONA.** Este código se utiliza para indicar que un diente forma parte de un puente fijo. Este código puede ser utilizado para coronas que se colocan por otras razones excepto caries.

8.- **DIENTE NO ERUPCIONADO.** Esta clasificación se restringe a dientes permanentes y se utiliza para espacios en donde no han erupcionado los dientes permanentes.

9.- DIENTE EXCLUIDO. Este código se usa para cualquier o.d. que por cualquier otra razón no pueda ser examinado.

W.- DIENTE CON LESIÓN BLANCA. La lesión blanca es una fase del proceso de caries, previa a la cavitación, donde el esmalte adquiere un aspecto cretáceo, blanquecino que contrasta con la apariencia translúcida del esmalte sano adyacente. Para una mejor observación del diente tiene que estar limpio y seco.

Estos criterios se aplican para cada una de las superficies, considerando que ninguna de ellas debe tener un doble código, si la lesión se observa sólo en la cara oclusal se debe anotar en el espacio central delimitado en el diente en cuestión del odontograma. Las superficies mesiales se ubican hacia la línea media. Las caras linguales hacia la línea horizontal del odontograma.

REGLAS ESPECIALES

- Se considera como erupcionado un diente permanente o temporal, cuando cualquier porción de su corona clínica haya atravesado la fibromucosa gingival y puede ser tocado con el explorador.
- Un diente es considerado presente, aún cuando la corona esté totalmente destruida quedando sólo las raíces.
- Los dientes supernumerarios no son clasificados.
- Cuando un diente permanente y uno temporal se encuentran juntos, ocupando el mismo espacio dentario, se anota sólo el permanente.
- Cuando exista duda en cuanto al estado del diente, se anota el más favorable, así: entre el estado de sano y cariado, se opta por el sano. Entre obturado y cariado, se opta por obturado. Entre cariado y extracción indicada, se opta por cariado y entre primero y segundo bicúspide, se opta por primer bicúspide.

Referencia: World Health Organization. 1987. Oral health surveys. Basic methods. 3rd ed. Geneva WHO.

ANEXO 4

**DETERMINACIÓN DE *S. mutans* EN SALIVA Y EN PLACA DENTOBACTERIANA
TÉCNICA MSB**

Estudios que han tratado de dilucidar el papel etiológico del *S. mutans* en la caries dental han sido obstaculizados. Sin embargo, el reto ha sido y sigue siendo elaborar técnicas convincentes y confiables para reconocer y cuantificar el organismo, tanto en saliva como en placa dental.

Un gran número de estudios reportan que un medio totalmente selectivo para el *S. mutans* es el agar mitis salivarius y que este deberá de tener como suplemento el 40% de sacarosa.

Sin embargo, la selección de este agente que ha sido usado como el seleccionador nato del *S. mutans*, no inhibe completamente el desarrollo de otros microorganismos, o en ocasiones llega a inhibir parcialmente el desarrollo del mismo *S. mutans*.

Se decide entonces agregar a este medio selectivo bacitracina. La relativa resistencia del *S. mutans* a altas concentraciones de sacarosa ha sido reportada junto a las demostraciones de su fuerte resistencia a la bacitracina hasta de 5u/ml (bact.). El 79% de los otros *Streptococcus* desaparecen ante una prueba similar.

Composición del Medio de cultivo: Agar mitis salivarius

Bacto triptose	10g
Bacto Proteose Peptone No. 3	5g
Bacto Proteose Peptone	5g
Bacto Dextrosa	1g
Bacto Saccharosa	50g
Dipotassium Phosphate	4g
Azul de Tripan	0.075g
Bacto Cristal Violeta	0.0008g
Bacto Agar	15g

Como inhibidores:

Telurito de potasio	1%
Bacitracina a una concentración 0.06 a 2 unit/ml.	

Agentes selectivos:

Sacarosa (Fisher Scientific Co.) agregada después de la esterilización, en un rango entre 10-40% w/v, en promedio 20%, o 150g.

Procedimientos:

Se suspende 90g del medio de cultivo en 1000ml de agua destilada y desionizada dejando reposar el medio para su hidratación (aproximadamente 15 minutos), posteriormente se hierve hasta que se disuelva completamente. Se esteriliza a 121° - 124° C durante 15 minutos a 15 libras de presión. Se enfría a 50°-55°C y se le agregan los 150g de sacarosa.

Justo antes de dispensar a las placas se agrega 1ml de solución estéril de Telurito de potasio (Bacto Chapman Tellurite). No se debe calentar el medio completo, agregándose 2 u x ml de bacitracina.

El pH final del medio debe ser de 7+/- 0.2 a 25°C.

Se mantienen las cajas de petri 1 día a temperatura ambiente y se meten a refrigeración, el medio tiene una vigencia de 1 semana.

Muestras clínicas de saliva y de placa dentobacteriana:

Se toman muestras de saliva total estimulada con parafina por 5 minutos, que son depositadas en tubos de ensaye estériles. La muestra de saliva se coloca en hielo a 4°C.

La muestra de PDB se obtendrá para esta investigación de las superficies oclusales de los primeros molares utilizando una aguja hipodérmica estéril, con la que se raspara con una presión firme y constante por seis veces de distal a mesial la superficie oclusal del primer molar inferior derecho. La aguja es depositada inmediatamente en un medio de transporte que contenga 3ml del medio de transporte VGMIII, debiendo ser colocada en hielo a 4°C, para ser transportado al laboratorio. Todas las muestras deberán ser procesadas antes de haber transcurrido 2 horas de su recolección.

Muestras:

En el laboratorio, el medio es agitado en un vortex al nivel de mezclado por 30 segundos, con el fin de desprender la placa dental de la aguja o para disgregar la saliva y obtener una suspensión homogénea.

Las diluciones de la suspensión se elaboran con 0.05% de extracto de agua de levadura, solución isotónica de cloruro de sodio al 5% o cualquier otra solución buffer. Se realizan diluciones de 10^{-1} a 10^{-3} .

100 microlitros de la dilución se rocían sobre la caja de petri con el medio MSB que debe estar al menos 3 horas antes de su utilización a temperatura ambiente, y se dispersa él inculo con un bastoncillo de vidrio estéril, una caja con la dilución de saliva y una caja con la dilución de PDB. Se incuban en una atmósfera al 95% de Nitrógeno y 5% de Dióxido de Carbono ó en su caso en jarras con candela dando una atmósfera de anaereobiósis parcial, durante 72 horas a 37° C.

Enumeración e Identificación:

Después de la incubación, las cajas deberán estar a temperatura ambiente durante 24 horas más.

El total del conteo de *S. mutans* es determinado a través de varios métodos, el seleccionado en ésta investigación se describe a continuación.

Brevemente: la superficie de cada caja se divide en sectores de acuerdo al sistema de conteo en espiral. Dependiendo de la uniformidad del crecimiento bacteriano, la sección de la superficie que será leída se elige al azar para la enumeración y se cuenta el número de UFC a través de varios métodos:

- a) con un contador de colonias Quebec,
- b) se pueden examinar las cajas usando microscopio a una magnificación de x15 y
- c) Por transluminación sobre una plantilla milimétrica se determina la cantidad de colonias por morfología de estas en el agar mitis salivarius y se hace el recuento microbiano de las UFC.

Las UFC que se forman en los platos se multiplica por el factor de dilución salival y ese será el número de UFC del individuo examinado, la información se anota en la historia clínica epidemiológica del niño.

Referencia: Gold, O.G., Jordan, H.V., Houte, J.: A Selective Medium for Streptococcus Mutans. Arch Oral Biol. 1973;18:1357-1364.

ANEXO 5

**DETERMINACIÓN DE *S. mutans* EN SALIVA Y EN PLACA DENTOBACTERIANA
TÉCNICA TSY20B**

Composición del Medio de cultivo: Soya tripticaseina

Agar Bacto Tryptone	15g
Bacto Soytone	5g
Cloruro de Sodio	5g
Bacto Agar	5g

Suplementos:

Bacto agar	5g
Extracto de levadura	10g

Agentes selectivos:

Sacarosa	200g
----------	------

Como inhibidores:

Bacitracina	200 IE
Bacitracina	0.2 u/ml

Procedimiento:

Se dispensan 40g del polvo en 1000 ml de agua destilada y desionizada dejando reposar el medio para su hidratación (aproximadamente 15 minutos), posteriormente se hierve hasta que se disuelva completamente. Se esteriliza a 121° -124° C durante 15 minutos a 15 libras de presión. Se enfría a 50°C y se le agregan los 200g de sacarosa.

Después de que el medio es esterilizado y enfriado a 55°C, se incorpora la bacitracina 200 IE. y suplementadas con 0.2 IE/ml de bacitracina para inhibir el crecimiento de *S. salivarius*, las cajas son almacenadas en bolsas de plástico a 4°C y deberán ser usadas en períodos desde que se prepara hasta 1 mes posterior a su preparación.

El pH final deberá ser de 7.0 +/- 0.2 a.

Muestras clínicas de saliva y de placa dentobacteriana:

Se toman muestras de saliva total estimulada con parafina entre 3 y 5 minutos, que son depositadas en tubos de ensaye estériles. La muestra de saliva se coloca en hielo a 4°C.

La muestra de PDB se obtendrá para esta investigación de las superficies oclusales de los primeros molares utilizando una aguja hipodérmica estéril, con la que se raspara con una presión firme y constante por seis veces de distal a mesial la superficie oclusal del primer molar inferior derecho. La aguja es depositada inmediatamente en un medio de transporte que contenga 3ml del medio de transporte VGMIII, debiendo ser colocada en hielo a 4°C, para ser transportado al laboratorio. Todas las muestras deberán ser procesadas antes de haber transcurrido 2 horas de su recolección.

Muestras:

En el laboratorio, el medio es agitado en un vortex al nivel de mezclado por 30 segundos, con el fin de desprender la placa dental de la aguja o para disgregar las saliva y obtener una suspensión homogénea.

Las diluciones de la suspensión se elaboran con 0.05% de extracto de agua de levadura, solución isotónica de cloruro de sodio al 5% o cualquier otra solución buffer. Se realizan diluciones de 10^{-1} a 10^{-3} .

100 microlitros de la dilución se rocían sobre la caja de petri con el medio TSY20B que debe estar al menos 3 horas antes de su utilización a temperatura ambiente, y se dispersa el inóculo con un bastoncillo de vidrio estéril, una caja con la dilución de saliva y una caja con la dilución de PDB. Se incuban en una atmósfera al 95% de Nitrógeno y 5% de Dióxido de Carbono ó en su caso en jarras con candela dando una atmósfera de anaerobiósis parcial, durante 72 horas a 37° C.

Enumeración e Identificación:

Después de la incubación, las cajas deberán estar a temperatura ambiente durante 24 horas más.

El total del conteo de UFC de *S. mutans* es determinado a través de varios métodos, el seleccionado en ésta investigación se describe a continuación.

Brevemente: la superficie de cada caja se divide en sectores de acuerdo al sistema de conteo en espiral. Dependiendo de la uniformidad del crecimiento bacteriano, la sección de la superficie que será leída se elige al azar para la enumeración y se cuenta el número de UFC a través de varios métodos:

- a) con un contador de colonias Quebec,
- b) se pueden examinar las cajas usando microscopio a una magnificación de x15 y
- c) por transluminación sobre una plantilla milimétrica se determina la cantidad de colonias por morfología de estas en el agar mitis salivarius y se hace el recuento microbiano de las UFC.

Las UFC que se forman en los platos se multiplica por el factor de dilución salival y ese será el número de UFC del individuo examinado, la información se anota en la historia clínica epidemiológica del niño.

Referencia: Schaeken, M.J.M., van der Hoeven, J.S., Franken, H.C.M.: Comparative Recovery of Streptococcus Mutans on Five Isolation Media, Including a new Simple Selective Medium. J. Dent. Res. 1986;65:906

ANEXO 6

**DETERMINACIÓN DE *S. mutans* EN SALIVA EN CALDO MITIS SALIVARIUS
(TÉCNICA DE MATZUKUBO Y COL)**

Composición del medio de cultivo:

Se utilizó el caldo de Mitis-Salivarius con bacitracina (MS-B):

Bacto Triptosa	1%
Bacto Proteosa peptona	1%
Bacto Dextrosa	0.1%
Fosfato de Potasio. Dibásico	0.1%
Azul Tripán	0.075%
Cristal Violeta	0.00008%

Inhibidores:

Telurito de Potasio	0.001%
---------------------	--------

Agentes selectivos:

Sacarosa	20%
Bacitracina	0.2u X ml
pH final: 7.0	

Procedimiento:

Se mezclan todos los ingredientes y la sacarosa en 80ml de agua destilada y desionizada se deja reposar el medio para su hidratación, posteriormente se hierve hasta su disolución. Se esteriliza a 121°-124°C por 15 minutos a 15 libras de presión. 24 horas antes de su utilización se activa el medio agregando la bacitracina y el telurito de potasio.

Este medio de cultivo será dispensado a razón de 2ml en tubos de ensaye de 8 X 100 mm, estériles y con tapa de goma o rosca y se guardarán a 4°C hasta su empleo. Este medio se utilizará antes de los 7 días, debido a que la Bacitracina pierde su acción después de una semana de preparada.

Muestreo clínico de saliva:

Se utilizarán tubos de ensaye estériles para recoger la saliva total sin estímulo de los niños. En los casos de niños de corta edad que no sean capaces de escupir, la saliva se les recogerá directamente de la zona sublingual, mediante el empleo de goteros estériles.

La toma de muestra se efectuará en las propias instituciones, en horas de la mañana, alejada de la ingestión de alimentos (120 minutos posteriores a la última ingesta).

Se anotará en un listado el nombre de cada niño y los resultados de los análisis de cada prueba realizada serán anotados progresivamente en las columnas habilitadas, con la fecha en que se realicen los mismos, con el fin de transcribir posteriormente la información a la historia clínica.

Muestras:

En el laboratorio, la muestra de saliva recolectada se agitará en Vortex al nivel de mezclado por 30 segundos, se tomarán 100 microlitros con una pipeta de puntas intercambiables y se inocularán los tubos de ensaye previamente rotulados de cada niño. Después de agitar por breves segundos (Vortex 15 segundos), para mezclar la saliva con el medio de cultivo, los tubos serán llevados a incubación aeróbica a 37°C durante 24 horas, colocados en una gradilla en la cual los tubos queden inclinados a 60 grados, según la técnica descrita por Matsukubo y col.

Enumeración e Identificación:

A las 24 horas se procederá a la lectura de las paredes del tubo de cultivo, después de verter el contenido del mismo en un matraz. El objetivo es observar la formación de colonias ocurrida en las paredes del tubo, y realizar un estimado de las mismas, por comparación con el diagrama del autor de la técnica.

Debido a que la cuantificación de colonias formadas directamente sobre el cristal puede ser errónea, como consecuencia de algún crecimiento en el fondo de los tubos y que pueda quedar retenido en sus paredes por adsorción, se ha establecido una modificación de la técnica de Matzukubo, aplicando un suave lavado de los tubos, descrito por Newbrun y col.⁵⁴, técnica que ya ha sido empleada en estudios epidemiológicos previos.

La lectura de los tubos se realizará según los siguientes conceptos:

- 0 No hubo crecimiento en las paredes del tubo.
- + Unos cuantos depósitos bacterianos (menos de 10) se observan en las paredes del tubo.

++ Colonias dispersas de pequeño tamaño aparecen en la pared de los tubos.

+++ Numerosos depósitos diminutos, con más de 20 de mayor tamaño aparecen en la pared del tubo.

Las equivalencias de esta lectura, que han sido señaladas por el autor, son las siguientes:

O No existe *S. mutans* en la saliva, o se halla en proporciones indetectables. Cultivo negativo

+ Menos de 3×10^4 X ml de saliva.

++ Entre 3×10^4 y 10^5 X ml de saliva.

+++ Más de 10^5 X ml de saliva.

Referencias: Matzukubo, T. et al: A Semi-quantitative Determination of Streptococcus Mutans using its Adherent Ability in a Selective Medium. Caries Res. 1981; 15:40-45.

Newbrun, E., Matzukubo, T., Hoover, I.C., Graves, R.C., Brown, A.T., Disney, T.A., Bohannon, H.M.: Comparison of two screening tests for Streptococcus mutans and evaluation of their suitability for mass screenings and private practice. Community Dent Oral Epidemiol. 1984;12:325-331

ANEXO 7

DETERMINACIÓN DE *S. mutans* EN SALIVA CON LA TÉCNICA DE CALDO DE SOYA DE TRIPTICASEINA CON BACITRACINA

Composición del medio de cultivo:

Se utilizó un caldo de Soya Trypticaseina con bacitracina:

Bacto Tryptone	1.7g
Bacto Soytone	0.3g
Cloruro de sodio	0.5g
Fosfato Dipotásico	0.25g
Azul Tripán	0.00008g

Inhibidores:

Telurito de Potasio	0.01ml
---------------------	--------

Suplementos:

Extracto de levadura	0.5g
----------------------	------

Agentes selectivos:

Sacarosa	20g
Bacitracina	0.2u X ml
pH final: 7.0	

Procedimiento:

Se mezclan todos los componentes, suplementos y la sacarosa en 100ml de agua destilada y desionizada se deja reposar el medio para su hidratación, posteriormente se hierve hasta su disolución. Se esteriliza a 121°-124°C por 15 minutos a 15 libras de presión. 24 horas antes de su utilización se activa el medio agregando la bacitracina y el telurito de potasio.

Este medio de cultivo será dispensado a razón de 8ml en tubos de ensaye de 10 X 100 mm, estériles con tapa de goma o rosca y se guardarán a 4°C hasta su empleo. Este medio se utilizará antes de los 7 días, debido a que la Bacitracina pierde su acción después de una semana de preparada.

Muestreo clínico de saliva:

Se utilizarán tubos de ensaye estériles para recoger la saliva total estimulada con parafina entre 3 y 5 minutos de los niños.

La toma de muestra se efectuará en las propias instituciones, en horas de la mañana, alejada de la ingestión de alimentos (120 minutos posteriores a la última ingesta).

Se anotará en un listado el nombre de cada niño y los resultados de los análisis de cada prueba realizada serán anotados progresivamente en las columnas habilitadas, con la fecha en que se realicen los mismos, con el fin de transcribir posteriormente la información a la historia clínica.

Muestras:

En el laboratorio, la muestra de saliva recolectada se agitará en Vortex al nivel de mezclado por 30 segundos, se tomarán 0.2 mililitros con una pipeta de puntas intercambiables y se inocularán los tubos de ensaye previamente rotulados de cada niño. Después de agitar por breves segundos (Vortex 15 segundos), para mezclar la saliva con el medio de cultivo, los tubos serán llevados a incubación aeróbica a 37°C durante 24 horas, colocados en una gradilla en la cual los tubos queden inclinados a 60 grados, técnica similar a la descrita para el caldo MSB.

Enumeración e Identificación:

A las 24 horas se procederá a la lectura de las paredes del tubo de cultivo, después de verter el contenido del mismo en un matraz. El objetivo es observar la formación de colonias ocurrida en las paredes del tubo, y realizar un estimado de las mismas, por comparación con el diagrama de Matzukubo utilizado en la técnica anterior.

Debido a que la cuantificación de colonias formadas directamente sobre el cristal puede ser errónea, como consecuencia de algún crecimiento en el fondo de los tubos y que pueda quedar retenido en sus paredes por adsorción, se precisará establecer una modificación a la técnica, aplicando un suave lavado de los tubos, descrito por Newbrun y col.

La lectura de los tubos se realizará según los siguientes conceptos:

- 0 No hubo crecimiento en las paredes del tubo.
- + Unos cuantos depósitos bacterianos (menos de 10) se observan en las paredes del tubo.
- ++ Colonias dispersas de pequeño tamaño aparecen en la pared de los tubos.
- +++ Numerosos depósitos diminutos, con más de 20 de mayor tamaño aparecen en la pared del tubo.

Las equivalencias de esta lectura, que han sido señaladas por el autor, son las siguientes:

O No existe *S. mutans* en la saliva, o se halla en proporciones indetectables. Cultivo negativo

+ Menos de 3×10^4 X ml de saliva.

++ Entre 3×10^4 y 10^5 X ml de saliva.

+++ Más de 10^5 X ml de saliva.

ANEXO 8

DETERMINACIÓN DE *Lactobacillus sp.* EN SALIVA Y PLACA DENTOBACTERIANA
 TÉCNICA DE ROGOSA SL

Composición del Medio de Cultivo:

Tripticase	10g
Extracto de levadura	5g
KH ₂ PO ₄	6g
Citrato de amonio	2g
Glucosa	20g
Sorbitan Monooleate	1g
Acetato de sodio	25g
Bacto agar	15g
Acido acético (99.5%)	1.32ml
Solución de sal	5ml
Dispensar H ₂ O a	1000ml

Solución de sal:

MgSO ₄ 7H ₂ O	11.5g
MnSO ₄ 2H ₂ O	2.4g
FeSO ₄ 7H ₂ O	0.68g
Dispensar H ₂ O en	100ml

Preparación:

Preparar la solución de sal enriquecida con una solución de monooleato de sorbitan 0.1g x ml. Disolver el agar en 400 ml de agua bidestilada hirviendo.

Disolver los demás componentes en 400ml de agua destilada y desionizada agregar la solución de sal enriquecida con el monooleato de sorbitan y después del calentamiento, mezclado con la solución caliente de agar. Se ajusta el volumen a 1000ml y coloca en el autoclave por 10 minutos a 115°C..

Procedimientos:

Existen dos tipos de posibilidades de procedimientos que se describen a continuación, haciendo hincapié en que en la presente investigación se utilizará el procedimiento 2.

Procedimiento 1

Estimular la saliva a través de una cápsula de parafina que se debe masticar aproximadamente por 5 minutos, la cual deberá ser recolectada en una probeta estéril.

La muestra debe ser homogeneizada por batido y diluida en un medio buffer estéril. Las diluciones recomendadas son 1:100 y 1:1000 y usualmente se encuentra una densidad óptima en las cajas con éstas diluciones.

Un mililitro de éstas diluciones es mezclado en Vortex y diluido sobre el agar SL a 45°C y puesta en las cajas de Petri estériles. Después de que el agar ha solidificado, las cajas son incubadas por 3 días a 37°C. Una segunda capa de SL puede ser colocada después de que la primera capa a solidificado.

Procedimiento 2:

También se puede utilizar esta técnica sobre la superficie del agar: Se obtiene saliva total estimulada por parafina entre 3 y 5 minutos, la cual es recolectada en un recipiente estéril. Esta muestra se homogeneiza y se agita en Vortex antes de ser diluida en un medio buffer estéril.

Las diluciones recomendadas son de 1:100 y 1:1000 de la muestra de saliva, usualmente es suficiente 0.1ml de la dilución rociado en la superficie del agar solidificado SL, dispersando él inóculo, con un rodillo de cristal estéril. Las cajas son incubadas por 96 horas a 37°C, pudiendo ser esta incubación en forma aeróbica o en forma anaeróbica.

Enumeración e Identificación:

Las UFC que se forman en los platos se multiplica por el factor de dilución salival.

Se considera un resultado:

alto > 10,000 bacterias x ml

bajo < 1,000 bacterias x ml

Rangos:

1,000	bacterias x ml = 10^3
10,000	bacterias x ml = 10^4
100,000	bacterias x ml = 10^5
1,000,000	bacterias x ml = 10^6

Referencia: Rogosa, M., Mitchel, J.A., Wiseman, R.: A selective medium for the isolation and enumeration of oral lactobacilli. J Dent Res 1951;30:682-689.

ANEXO 9**DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DE ACIDIFICACION SALIVAL PRUEBA DE SNYDER****Composición del medio:**

Bacto tryptosa	20g
Bacto Dextrosa	20g
Cloruro de sodio.	5g
Bacto agar	20g
Verde de Bromocresol	0.02g

Procedimiento:

Se suspenden 65g del medio en 1000ml de agua destilada y desionizada, se deja reposar el medio cuando menos 15 minutos para su hidratación, posteriormente se calienta la solución lentamente hasta que se disuelven los componentes completamente, dejando hervir entre 1 y 2 minutos. Se deja el medio enfriar hasta aproximadamente 45°C, para su manipulación. Se distribuyen 8ml del medio en tubos de ensaye con tapa de rosca de 100 x 16 mm, colocándose en una gradilla. Se esteriliza a 121°C por 15 minutos a 15 libras de presión. Se dejan enfriar los tubos en posición recta, se guardan en refrigeración a 4°C hasta su utilización.

El pH final deberá ser de 4.8 ± 0.2 a 25°C.

Muestreo clínico de saliva:

El muestreo clínico inicia con la recolección de saliva total estimulada con parafina entre 3 y 5 minutos (120 minutos después de haber ingerido alimentos), la cual es depositada en tubos de ensaye estériles con tapa de rosca y se transporta al laboratorio para su procesamiento.

Muestras:

El agar de Snyder se debe poner a baño María a 40° C para su transformación de gel a sol. La saliva es agitada en vortex por 30 segundos con el fin de disgregar la saliva y obtener una suspensión homogénea. Se toma con una pipeta de puntas intercambiables 0.2 ml de saliva del tubo de ensaye y se inocula el medio el cual es agitado nuevamente en el Vortex durante 20 segundos para su homogeneización con el agar Snyder

Todos los tubos inoculados y un tubo control se incuban a 37°C durante 24 a 72 horas observando las modificaciones en el color cada 24 horas.

Evaluación:

Los tubos se examinan diariamente durante 3 días, registrando cualquier cambio de color lo cual se facilita por transluminación contra el tubo control de Snyder. El color cambiará gradualmente desde el verde azulado al amarillo en correspondencia con la disminución en los valores del pH.

La lectura de los tubos se realizará según los siguientes conceptos:

Positivo: Cambio de color cuando el color verde no es el dominante se registra como ++ a +++

Negativo: Sin cambio de color a uno ligero pero el verde domina se registra como 0 a +

Interpretación:

Actividad de Caries	Horas de Incubación		
	24	48	72
Marcada	positiva	-	-
Moderada	negativa	positiva	-
Ligera	negativa	negativa	positiva
Negativa	negativa	negativa	negativa

Referencias: Snyder, M.L.: A simple colorimetric method for diagnosis of caries activity. J A D A 1941;28:44-49
 Snyder, M.L.: Laboratory methods in the clinical evaluation of caries activity. J A D A 1951;42:400-413
 Snyder, M. L.: Evaluation of laboratory tests for the examination of caries activity, correlation with specific surfaces. Arch Oral Biol 1963;8:541-547

ANEXO 10
PRUEBAS BIOQUÍMICAS UTILIZADAS PARA LA IDENTIFICACION DEL GRUPO
MUTANS

1. PRUEBA DE LA ESCULINA EN MEDIO CON BILIS

I. PRINCIPIO

Determinar la facultad de un organismo de hidrolizar el glucósido esculina en esculetina y glucosa, en presencia de bilis (10 a 40%).

II. OBJETIVO

A) Ayudar a la diferenciación de los estreptococos del grupo D de otros estreptococos que no pertenecen a dicho grupo.

B) Ayudar a la diferenciación de la *Listeria monocytogenes* (+).

III. BASES BIOQUÍMICAS

La esculina es un glucósido; un acetal derivado de monosacáridos simples. Cuando un elemento no es un hidrato de carbono se une a un azúcar por medio de un enlace acetal, el acetal resultante se denomina glucosido y la mitad no hidrocarbonada aglucon. La aglucona esta unida al azúcar madre por medio de un átomo de oxígeno (enlace glucosídico [-o-]).²

Los acetales son rápidamente hidrolizados por los ácidos; la base de la prueba de la esculina es la hidrólisis de la esculina en esculetina, liberando la molécula de glucosa.

IV. MEDIO EMPLEADO: MEDIO DE ESCULINA CON BILIS (pH:7)

A) Ingredientes (medio general).

- | | |
|----------------------|-----|
| 1. Peptona | 5 g |
| 2. Extracto de carne | 3 g |
| 3. Bilis de buey | 40g |
| 4. Esculina | 1 g |
| 5. Citrato de Hierro | |

(FeC6H5O7)	0.5g
6. Agar	15g
7. Agua destilada	1,000 ml

- B) Productos que se encuentran en el comercio
1. Difco: dos variedades.
 - a) Medio de esculina y bilis (MEB).
 - b) Medio de esculina y bilis modificado (MEBM) (modificación, sin agregado de suero equino).
- C) Diferencias generales entre los medios comerciales.
1. Concentración de bilis
 - a) 40% (Difco)
 2. Azida sódica (N3Na), 0.25 g/lt.
 - a) Ausente en los medios de Difco.
- D) Método de preparación.
1. Medir exactamente la cantidad que exige el proyecto; los diferentes productos pueden variar ligeramente.
 2. Rehidratar con agua destilada y desmineralizada.
 3. Calentar suavemente la solución
 4. Colocar aproximadamente 5 ml en un tubo con tapa de rosca (16x125mm).
- E) Método de esterilización.
1. Autoclave
 2. 121 °C, 15 libras, 15 minutos.
- F) Dejar enfriar manteniendo el tubo inclinado (para obtener una gran superficie en pico de flauta).
- G) Refrigerar para su conservación (4-10°C).
- H) Método de inoculación.
1. Inoculo de 24 horas de un cultivo puro en agar sangre.
 2. Sembrar una colonia del agar con asa de inoculación y sembrar sobre el agar en estría
- I) Incubación. 35°C por un mínimo de 48 horas.
1. Pueden controlarse periódicamente (cada 24 horas) los tubos y si la reacción es positiva, anotar el resultado.
 2. Esperar hasta las 72 horas antes de hacer un informe negativo.

V. INTERPRETACIONES

- A) Prueba EB positiva (hidrólisis de la esculina): presencia de un color negro o castaño oscuro en el pico de flauta.
1. La mitad o más de la superficie del medio aparece negra.
 2. En cualquier intervalo de tiempo.
- B) Prueba EB negativa (hidrólisis de la esculina).
1. No se ha producido el ennegrecimiento del medio.
 2. Ennegrecimiento de menos de la mitad del tubo después de 72hrs de

incubación (reacción +/-).

3. Puede producirse crecimiento, pero esto no indica la descomposición de la esculina; solamente indica que la concentración de bilis no inhibió el crecimiento normal de los organismos que no corresponden a los estreptococos del grupo D.

C) Grupo mutans registra prueba positiva.

2. PRUEBAS DE FERMENTACIÓN DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

I. PRINCIPIO

Determinar la capacidad de un organismo de fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico incorporado a un medio básico, produciendo ácido, o ácido con gas visible.

II. OBJETIVO

A) Las formas de fermentación son generalmente características para grupos o especies bacterianas específicas.

1. Que fermentan la glucosa: todos los miembros de las *Enterobacteriaceae*.
2. Que fermenten la glucosa y la lactosa: *Escherichia coli*, *Klebsiella* y grupos *Enterobacter*.

B) Ayudar a la diferenciación entre los géneros: *Listeria monocytogenes* (salicina A) de especies de *Corynebacterium* (salicina).

C) La forma de utilización de los hidratos de carbono puede ayudar a la diferenciación de las especies.

- 1) *Aeromonas punctata* (rafinosa A) de otras especies de *Aeromonas* (rafinosa).
- 2) *Neisseria lactamica* (lactosa A) de otras especies de *Neisseria* (lactosa-).
- 3) *Proteus rettgeri* (inositol A) del *Proteus morganii* (inositol-)
- 4) *Providencia alcaligenes* (adonitol A, inositol-) de la *Providencia stuartii* (adonitol -, inositol A).
- 5) *Staphylococcus aureus* (manitol A) del *Staphylococcus epidermidis* (manitol).
- 6) *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus sanguis* (inulina A) de las especies de *Streptococcus* del grupo D (inulina).
- 7) *Yersinia enterocolitica* (sacarosa A) de otras especies de *Yersinia* (sacarosa).

III BASES BIOQUÍMICAS

Los hidratos de carbón se clasifican como:

1. Monosacáridos, aldehidos polihidroxílicos o cetonas;
2. Monopolisacáridos u oligosacáridos, productos de condensación de dos o más monosacáridos (polímeros de los monosacáridos), o
3. Alcoholes polihídricos y ciclitoles (inositoles), productos de la reducción de los monosacáridos.

Los polisacáridos, trisacáridos y disacáridos son demasiado complejos para entrar en una célula bacteriana para su degradación. Si pueden ser metabolizados por una especie bacteriana determinada, primeros son catabolizados en monosacáridos menos complejos por enzimas exocelulares (permeasas) de manera que puedan penetrar en la célula.

La fermentación es un proceso metabólico de oxidación-reducción anaeróbico en el cual un sustrato orgánico sirve como aceptor de hidrogeno final (aceptor de electrones) en lugar del oxigeno. La fermentación de sustratos orgánicos como los carbohidratos dan tanto productos finales reducidos como oxidados.

El tipo de productos finales producidos por la fermentación de los hidratos de carbono depende de varios factores:

- 1) El tipo de organismo que lleva a cabo el proceso de fermentación;
- 2) la naturaleza del sustrato que debe ser fermentado, y
- 3) a veces, los factores ambientales como la temperatura y la acidez. Los productos finales de la fermentación de los hidratos de carbono y los alcoholes, denominados colectivamente "azucares", son pocos: dos gases, hidrógeno y anhídrido carbónico; algunos pocos ácidos; algunos alcoholes, y una cetona.

Algunas bacterias pueden fermentar anaeróbicamente la glucosa, otras la oxidan y algunas pueden metabolizarla por ambos métodos, mientras que otras, aun, son incapaces de utilizar la glucosa. No todos los monosacáridos son degradados por todas las especies bacterianas; sus formas de fermentación difieren, ayudando a la identificación del grupo, género o especie. Asimismo, las muestran diferencias en los ciclos utilizados para fermentación del mismo sustrato, dando como resultado diferentes productos finales. La forma y el grado en que es desasimilado un sustrato depende de la especie bacteriana y de las condiciones de cultivo.

El ciclo de fermentación que produce como producto final el ácido láctico es el proceso de fermentación más difundido. Sin embargo, se producen otros ciclos de fermentación, que difiere con respeto al sustrato metabolizado o la naturaleza del producto final producido.

Con la utilización de las pruebas con los hidratos de carbono se puede obtener modelos de fermentación de una determinada especie bacteriana observando:

- 1) la ausencia de glucosidos, y/o
- 2) la ausencia de monosacáridos en disacáridos, trisacáridos y polisacáridos más complejos, que muestren que la glucosa ha sido metabolizada.

Los productos finales característicos de la fermentación bacteriana son:

- 1) ácido láctico;
- 2) Ácido acético y fórmico;
- 3) ácido láctico y alcohol etílico (etanol);
- 4) alcohol etílico (etanol);
- 5) acetilmetilcarbinol (acetoina) y CO₂;
- 6) CO₂ y acetanol alcohol isopropílico (isopropanol);
- 7) ácido butírico a alcohol butílico (butanol).

IV. MEDIOS EMPLEADOS

A) Caldo básico rojo de fenol, pH: 7.4

1. Ingredientes.

- | | |
|--|----------|
| a) Peptona (proteasa o digesto pancreático de caseína) | 10g. |
| b) Extracto de carne (opcional) | 1g. |
| c) Cloruro de Sodio ClNa | 5g. |
| d) Rojo de fenol | 0.018g. |
| e) Agua destilada | 1,000ml. |

2. Indicador del pH, rojo de fenol.

- a) Ácido color amarillo, pH: 6.8.
- b) Alcalino: color rojo rosado, pH: 8.4.
- c) Medio no inoculado: pH: 7.4; color anaranjado rojizo.

B) Productos comerciales.

1. Difco.
2. BBL.

C) Método de preparación, caldo básico rojo de fenol.

1. Pesar exactamente las cantidades como se indica en el producto. Los productos de diferentes laboratorios pueden variar ligeramente.
2. Rehidratar con agua destilada o desmineralizada.
3. Calentar suavemente hasta disolución.

D) Método de esterilización, caldo básico rojo de fenol.

1. Autoclave.
- 2 121°C, 15 libras 15 min.

E) Enfriar a 45-50°C en baño de agua.

F) Método de preparación, hidratos de carbono.

1. Puede utilizarse diversos hidratos de carbono. La bacteria usada depende de las dificultades que se presenten para identificar un organismo determinado.

2. Por lo general, usar de 8 a 10 azúcares. Los que se emplean con más frecuencia son: 1) glucosa; 2) lactosa; 3) sacarosa; 4) manitol; 5) dulcitol; 6) salicina; 7) adonitol; 8) inositol; 9) sorbitol; 10) arabinosa; 11) rafinosa; 12) ramnosa; 13) xilosa; 14) trehalosa; 15) galactosa; 16) celobiosa; 17) inulina; 18) fructosa (azúcar invertido); 19) melibiosa.
3. Concentraciones de azúcares en el caldo básico.
4. Agregar alícuotas de la base preparada, los hidratos de carbonó que se desee.
 - a) Salicina, 0.5%.
 - b) Todos los demás, 1%.

G) Preparación de las concentraciones de azúcar, dos métodos.

1. Agregar directamente el azúcar a la base en la concentración deseada, por ejemplo 10 g de azúcar por litro de base para una concentración final del 1%.
2. Preparación de soluciones de azúcar.
Preparar una concentración del 5 o 10% del azúcar deseado en agua destilada.
Solución al 5%: 5g/100ml.
Solución al 10%: 10g/100ml.

Agregar la solución de azúcar a la base para obtener una concentración final deseada de 0.5% o 1%. Colocar 100ml de una solución al 0.5% en un frasco volumétrico de 1 litro y agregar caldo básico rojo de fenol c.s.p. 1,000ml, mezclar bien. 1% /litro Colocar 100ml de una solución al 10% en un frasco volumétrico de un litro y agregar caldo básico rojo de fenol c.s.p. 1,000ml mezclar bien.

H) Método de esterilización, medio básico de hidratos de carbono.

1. Filtración (recomendada como el método de elección).
 - a) Método del filtro de membrana (Millipore).
 - b) Membranas, poros de 45 μ de diámetro.
 - c) Colocar asépticamente, en tubo de ensaye estéril aproximadamente 4 a 5ml.

2. Autoclave, dos métodos alternativos.

1. Método de preparación.

- a) Agregar a alícuotas de la base de rojo de fenol preparada no esterilizada, los hidratos de carbono individuales elegidos.
- b) Tubo de hidrato de carbono (medio básico) no esterilizado, 4 a 5ml por tubo.
- c) Únicamente a los tubos de glucosa, agregar tubo de Durham invertidos.

2. Método 1: 106-108°C, 10-12 lbs, 15min.

- a) Algunos hidratos de carbono soportan el autoclave sin descomponerse o con pocas alteraciones.
- b) No se aconseja someter a autoclave durante 15min. a los siguientes hidratos de carbono: 1) lactosa 2) sacarosa 3) salina 4) xilosa 5) arabinosa 6) trehalosa 7) maltosa.

3. Método 2: 121°C, 15lbs 3min.

- a) Utilizado cuando el elemento tiempo es fundamental.
- b) Deben efectuarse los controles ante de su utilización con fines diagnósticos para controlar su posible descomposición.

I) Enfriar antes de su empleo y refrigerar para su conservación (de 4 a 10°C).

J) Método de Inoculación.

- a) Crecimiento de un cultivo puro de 18 a 24 horas. (AHK o cualquier otro cultivo conveniente).
- b) Inoculo espeso.

1. Puede inocularse una batería de hidratos de carbono con un solo inoculo.

2. Métodos de inoculación.

a) Con isopo.

Para el isopo sobre el crecimiento de un cultivo en AHK u otro conveniente. El isopo se habrá humedecido previamente con solución fisiológica o caldo estéril si el cultivo se ha efectuado en un medio sólido.

Asépticamente, pasar el isopo contra un costado de cada uno de los tubos de hidratos de carbono, por encima del nivel del líquido. Inclinar el tubo para que se incorpore el inoculo. Sacudir suavemente cada tubo. No dejar que el líquido salpique la tapa del tubo (cierre de metal).

b) Con aguja o asa de inoculación.

Pasar la aguja o el asa sobre el crecimiento de un cultivo AHK u otro conveniente. Si se trata de un caldo de cultivo, utilizar un asa de inoculación. Asépticamente, introducir la aguja o el asa en cada uno de los tubos de hidrato de carbono. Agitar suavemente cada tubo. No dejar que el líquido salpique la tapa del tubo (cierre de metal).

c) General, cualquier método de inoculación.

Por lo común es suficiente un solo inoculo para inocular una batería de 10 a 8 hidratos de carbono. Cuando se inocula una batería no hay necesidad de pasar por la llama entre cada inoculación. Cuando se utiliza una aguja o asa para inocular una batería con un solo inoculo, el traspaso de azúcar de un tubo a otro es tan ínfimo que no hay problema de que un tubo contenga una mezcla de carbohidratos. Cuando se inocule una batería no es necesario observar en forma apreciable el inoculo en cada uno de los tubos. Un solo inoculo espeso tornado de un cultivo contiene millones de bacterias que son suficientes para inocular cada tubo con un numero apreciable de bacterias necesarias para que se produzca el metabolismo. Sin embargo, cuando se prueba una gran batería de hidratos de carbono, por ejemplo, 15 a 20 azúcares, puede ser necesario emplear 2 a 3 inóculos separados. En este caso, se pasará siempre por la llama

la aguja o el asa antes de volver a introducirla en el cultivo. Si se utiliza un isopo, se empleará uno nuevo para cada recolección del cultivo. Estas precauciones evitan toda posibilidad de contaminación del cultivo, que podría necesitarse para otras pruebas o para subcultivos.

- K) Incubación.
- a) Incubadora 35° C.
 - b) 18 a 24 h.
 1. Puede ser necesaria una incubación prolongada.
 2. Puede ser necesaria una incubación de hasta 30 días para considerar negativo un resultado.

V. RESULTADOS

Se hace por comparación con las fotografías en colores de los libros de bioquímica.

VI. INTERPRETACIONES

- A) Medio de caldo con hidratos de carbono y rojo de fenol.
1. Positivo.
 - a) Ácido (A), pH 6,8.
 - b) Color amarillo
 - c) Producción de gas, variable.
 2. Retardada.
 - a) Color anaranjado. Si no se tiene seguridad, comparar con el tubo no inoculado.
 - b) Volver a incubar.
 3. Negativa.
 - a) Alcalina.
 - b) Color rosa-rojizo.

VII. PRECAUCIONES

- A. Colectivamente los hidratos de carbono se denominan "azúcares". Sin embargo, muchos son en realidad alcoholes polihídricos. Cuando es un azúcar propiamente dicho la terminación es "osa" mientras que los alcoholes terminan con "ol". Por lo tanto, son ejemplos de azúcares: lactosa, sacarosa, maltosa; mientras que dulcitol y manitol son alcoholes. Existen algunas excepciones, como en el caso del azúcar salicina (glucósido).
- B. La concentración de los hidratos de carbono incorporados en el caldo básico con rojo de fenol es comunmente 1%.

- C. El grupo mutans fermenta diferentes azucares como se estipula en el diagrama de Loesche.

3. PRUEBA DE LA CATALASA

I. PRINCIPIO

Comprobar la presencia de la enzima catalasa

II. OBJETIVO

A) Utilizada originariamente para diferenciar entre los géneros.

1. *Streptococcus* (-) del *Micrococcus* y/o *Staphylococcus* (+).

2. *Bacillus* (+) del *Clostridium*

3. *Listeria monocytogenes* (+) y/o *Conne bacterium* (+) del *Erysipelothrix*

Excepciones:

a) *Corynebacterium pyogenes* (-)

b) *Corynebacterium haemoliticum* (-).

B) Ayudar a la diferenciación de especies: *Moraxella bovisi* (-) y *Moraxella kingii* de otras especies de *Moraxella* (+).

III. BASES BIOQUÍMICAS

La enzima catalasa se encuentra en la mayoría de las bacterias aeróbicas y anaerobias facultativas que contienen citocromo; la excepción principal es el *Streptococcus*. Por lo general, los organismos que no poseen el sistema citocromo carecen también de la enzima catalasa y por lo tanto no puede descomponer el peróxido de hidrogeno. La mayoría de las bacterias anaerobias (por ejemplo, especies de *Clostridium*) poseen la enzima peroxidasa en lugar de la catalasa. Sin embargo, Doelle afirma que la prueba de la catalasa no es específica y puede interferir en la acción de las enzimas peroxidadas.

Tanto las catalasas como las peroxidadas entran en la clasificación enzimática general de "hidroperoxidadas". La catalasa es una hemoproteína; el grupo prostético está formado por cuatro átomos de hierro trivalente (Fe^{+++} -férico) por molécula que retiene su estado oxidado durante la actividad enzimática.

La descomposición del peróxido de hidrogeno se produce a través de la acción de las enzimas:

1) catalasa (oxidoreductasa del peróxido de hidrogeno), y

2) una peroxidasa, nicotinamida adenindinucleotico fosfato (NADH) reducido, citocromo c, o glutatión. En la descomposición de peróxido de hidrogeno una

molécula actúa como el sustrato y la otra como donador; el sustrato reducido por los átomos de hidrogeno cedidas por el dador, da como resultado un sustrato reducido y un dador oxidado.

Otros compuestos, aparte del peróxido de hidrogeno, que pueden ser sustratos utilizados por la catalasa, son: varios alcoholes (por ejemplo, etanol), formaldehído hidratado ($H_2C(OH)_2$), ácido nitroso (NO_2H), y ácido fórmico ($HCOOH$). También pueden usarse sustratos inespecíficos como las aminas aromáticas, fenoles y ácidos aromáticos. La enzima catalasa puede emplearse el peróxido de hidrogeno para oxidar los alcoholes metílicos (CH_3OH) y, etílico (C_2H_5OH), cediendo sus correspondencias aldehidos. El pH optimo para la actividad de la catalasa es 7.

IV. REACTIVOS

A) Peróxido de hidrogeno, 30% (Superoxal).

1. Conservar en frasco color caramelo. Evitar la innecesaria exposición a la luz.
2. Mantener continuamente refrigerado cuando no se usa.

B) Buffer fosfato (M/15), pH 7

1. Ingredientes

- | | |
|--|----------|
| a) Fosfato monopotásico (KH_2PO_4) anhídrido | 1,361 g |
| b) Fosfato disódico (Na_2HPO_3) anhídrido | 1,420 g |
| c) Agua destilada | 1.000 ml |

2. Método de preparación.

3. Agregar las sales a un pequeño volumen de agua destilada (hervida y enfriada antes de su uso) en un frasco volumétrico de un litro. Disolver por agitación y agregar agua destilada hervida c.s.p. 1000ml Tween 80, 10%. Control de calidad: El peróxido de hidrogeno debe ser controlado con cultivos positivos y negativos conocidos, antes de su uso general.

El *Staphylococcus aureus* y cualquier especie de *Streptococcus* son buenos controles, ya que se obtienen fácilmente Y su conservación en cultivos madre no crea problemas. *S. aureus*, prueba fuertemente positiva; especies de *Streptococcus*, prueba negativa. A excepción del *S. sobrinus* que es catalasa positivo.

V. MÉTODOS

A) Pruebas de la catalasa de rutina, a la temperatura del ambiente (250 C).

1. Método del portaobjetos, procedimiento recomendado.

- a) Con una aguja de inoculación recoger el centro de una colonia pura de 18 a 24 h y colocar sobre un portaobjetos de vidrio limpio.
- b) La prueba no podrá aplicarse si el agar sangre es introducido en el H_2O_2
- c) Agregar una gota de H_2O_2 al 30 % sobre el organismo del portaobjetos. Usar un gotero o una pipeta de Pasteur.

- d) No invertir el orden del método porque pueden producirse resultados falsos positivos.
- e) No mezclar con la aguja o el asa de inoculación. No es necesaria la mezcla del cultivo y el H₂O₂
- f) Observar la inmediata formación de burbujas (liberación de gas) y registrar el resultado.
- g) Desechar el portaobjetos poniéndolo en un desinfectante.

2. Método en tubo de ensayo.

- a) Agregar directamente 1 ml de H₂O₂ al 3% a cultivo puro de agar en pico de flauta, densamente inoculado.
- b) No utilizar un medio de cultivo agar sangre.
- c) Observar la inmediata formación de burbujas (liberación de gas) y anotar el resultado.

VI. RESULTADOS

Los resultados se comparan contra las fotografías de los libros específicos.

VII. INTERPRETACIÓN

- A) Prueba positiva: formación inmediata de burbujas bien visibles (formación de O₂).
- B) Prueba negativa: no hay formación de burbujas. (no se forma O₂).

4. PRUEBAS DE LOS DECARBOXILASAS (LISINA-ORNITINA-ARGININA)

I. PRINCIPIO

Medir la capacidad enzimática, de un organismo para decarboxilar un aminoácido para formar una amina, con la consiguiente alcalinidad.

II. OBJETIVO

- A) Las pruebas de las decarboxilasas se emplean fundamentalmente para determinar grupos bacterianos entre las *Enterobacteriaceae*.
- B) Los aminoácidos decarboxilados son la lisina, la ornitina y la arginina.

1. Arginina-deshidrolasa.

- a) Ayudar a la diferenciación de las especies: *Enterobacter cloacae* (+) de otras especies de *Enterobacter* (generalmente -).
- b) Ayuda a la identificación de las *Pseudomonas*.

III. BASES BIOQUÍMICAS

La decarboxilación es el proceso por el cual las bacterias que poseen enzimas decarboxilasas específicas son capaces de atacar a los aminoácidos en su grupo carboxilo (-COOH), dando una amina o una diamina y anhídrido carbónico.

Las enzimas decarboxilasas son numerosas y cada una es específica para un sustrato determinado. En un laboratorio de bacteriología clínica, las tres decarboxilasas importantes utilizadas para la identificación bacteriana son lisina, la ornitina y la arginina. Estas decarboxilasas son enzimas adaptativas o inducidas; son formadas por un organismo solamente cultivadas en un medio ácido en presencia de un sustrato específico, y los productos de la decarboxilación provocan una desviación del pH hacia la alcalinidad. La decarboxilación está limitada a aquellos aminoácidos que poseen por lo menos un grupo químicamente activo que no sea una amina (-NH₂) o un grupo carboxilo (-COOH), 13 y, la descomposición de los aminoácidos se produce anaeróbicamente. El proceso de decarboxilación es irreversible, no oxidativo, y requiere una co - enzima común, el fosfato de piridoxal.

En el sistema de la decarboxilasa, la L-arginina sufre la decarboxilación para dar agmatina, una molécula más grande que la putrescina, que no puede ser considerada el producto final en el catabolismo de la arginina por las bacterias vivas. Una nueva descomposición de la agmatina se produce por una de dos vías. La acción catalítica de la enzima agmatinasa desdobla la agmatina en dos compuestos, putrescina y urea. Si se encuentra la enzima ureasa, es también catabolizada para dar dos moléculas de amoníaco (NH₃) anhídrido carbónico (CO₂). Moller halló que la putrescina no sufre una nueva descomposición de grado demostrable.

Este mismo autor comprobó también que todas las cepas de las *Enterobacteriaceae* producen la enzima agmatinasa y por lo tanto muestran un enérgico catabolismo de la agmatina, dando putrescina y urea, o putrescina y 2NH₃ y CO₂ si también se encuentra presente la enzima ureasa.

La agmatina es catabolizada por la enzima agmatina-deshidrolasa en putrescina. CO₂ y NH₃, por medio de un compuesto intermediario, monocarbamil putrescina, que se encuentra en los organismos *Streptococcus faecalis*.

En el sistema dehidrolasa, la descomposición de L-arginina, seguido por un segundo lo han demostrado Knivett, Slade Stamp, y Oginsky y Gehring se produce en un proceso de dos etapas: primero una descomposición de la L-arginina en L-citrulina, seguido por un proceso de desdoblamiento de la citrulina. La reacción general produce la formación de la L-ornitina, CO₂ y NH₃ del sustrato L-arginina.

Si un organismo es capaz de descomponer la L-arginina en L-ornitina por el sistema dehidrolasa, por la acción catalítica de la ornitina-decarboxilasa, la L-ornitina es nuevamente degradada en putrescina y anhídrido carbónico. Sin embargo, para determinar la presencia de una ornitina-decarboxilasa debe llevarse a cabo una prueba separada, utilizando solamente el sustrato aminoácido L-ornitina. Es imposible determinar la degradación de la arginina, y la ornitina en una sola prueba.

Cuando el desvío del indicador del pH hacia la alcalinidad es rápido y enérgico, ello indica que el catabolismo de la L-arginina se debió al sistema de la arginina-dehidrolasa. Un desvío del pH más lento y más débil sin formación de amoníaco se produce cuando la L-arginina es degradada solamente por el sistema de la arginina-decarboxilasa. Sin embargo, el factor tiempo no es confiable como método para determinar el ciclo utilizado.

IV. MEDIOS EMPLEADOS

- A) Producto comercial DIFCO.
Método de preparación. Pesar la cantidad con exactitud, tal como se indica en el prospecto.
- Rehidratar con agua destilada y/o desmineralizada.
 - Calentar suavemente hasta la disolución.
 - Agregar 10g (concentración al 1%) del aminoácido deseado. (Monoclorhidrato de L(+)-arginina al 1%).
 - Un tubo de aproximadamente 4 a 5 ml por cada tubo con tapa a rosca.
- B) Método de esterilización
- Autoclave.
 - 121° C, 15 libras, 15 min.
- c) Enfriar, ajustar las tapas de rosca y refrigerar para su conservación (4-10°C).
- d) Inoculación.
Crecimiento de un cultivo puro de 18 a 24h: AHK o placas de agar sangre.
- Inoculo liviano.
 - Con cada bacteria de aminoácidos en proceso de investigación, se inoculará un tubo de control sin aminoácidos: un tubo C, control; A, arginina.
 - Cubrir todos los tubos incluyendo el de control, con 2 o 3 ml de parafina o vaselina estéril. En estas condiciones el oxígeno del medio es consumido por los microorganismos y esto controla el pH.
- E) Incubación.
- 35°C.
 - 24 horas a 4 días, con exámenes diarios. A veces se necesita una incubación prolongada, de 6 a 10 días o más, para demostrar reacciones débiles debidas a la escasa actividad decarboxilasa de un organismo.

VI. RESULTADOS

Los fotografías en colores de los resultados pueden verse en los libros de bioquímica contra los que se hace la comparación.

VII. INTERPRETACIÓN

Cualquier aminoácido da los mismos resultados en color: ejemplo, la lisina-decarboxilasa.

- A. Prueba positiva: púrpura turbio a un púrpura amarillento apagado (producido por la cadaverina).
- B. Prueba negativa: color amarillo claro y brillante (solamente fermentado por la glucosa).

5. PRUEBA DEL ROJO DE METILO

I. PRINCIPIO

- A. Comprobar la capacidad de un organismo de producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa, y vencer la capacidad amortiguadora del sistema.
- B. Es una prueba cualitativa de la producción de ácido (determinación del pH); algunos organismos producen más ácidos que otros.

II. OBJETIVO

A) Ayudar a la diferenciación entre los géneros.

- 1. *Escherichia coli* (+) del *Enterobacter aerogenes* (-), *Enterobacter cloacas* (-) y *Klebsiella* (por lo general -).
- 2. Especies de *Yervznia* (+) de otros bacilos no entéricos gram negativos

B) Ayudar a la identificación de la *Listeria monocytogenes* (+).

III. BASES BIOQUÍMICAS

La prueba del rojo de metilo (RM) se basa en el empleo de un indicador del pH, rojo de metilo, para determinar la concentración de iones hidrógeno (pH) presente cuando un organismo fermenta la glucosa." La concentración de hidrogeniones depende de la relación gaseosa (CO₂ y H₂), que a su vez es un índice de los diferentes ciclos del metabolismo de la glucosa que muestran diversos organismos. Las diferentes formas de fermentación se deben a variaciones en las enzimas vinculadas con el metabolismo del ácido pirúvico que se encuentran en el organismo.

Todos los miembros de las *Enterobacteriaceae* son, por definición, fermentadores de la glucosa. En el caldo RM/Voges-Proskauer (VP), después de 18 a 24 h de incubación,

la fermentación resultante da productos secundarios metabólicos ácidos; por lo tanto, inicialmente todos los entéricos darán una reacción positiva con el rojo de metilo. Sin embargo, después de más tiempo de incubación como lo exige la realización de la prueba (de 2 a 5 días), aquellos organismos que son rojos de metilo positivos continúan produciendo más ácidos, y dan como resultado un bajo pH terminal, venciendo al sistema amortiguador de fosfato, y manteniendo un medio ácido (pH: 4,2 o menos).

Los organismos rojos de metilo negativos continúan metabolizando los productos iniciales de la fermentación por decarboxilación, produciendo acetilmetilcarbino (acetoína) neutro, lo que da un pH elevado terminal que disminuye la acidez del medio, elevando el pH hacia la neutralidad (pH 6 o más).

Los organismos rojos de metilo positivos también producen ácidos estables, manteniendo una alta concentración de iones hidrógeno hasta alcanzar cierta concentración y entonces cesa toda actividad.

Los organismos rojos de metilo negativos también producen ácidos (acético, láctico y fórmico), pero tienen una menor concentración de iones hidrógeno porque hay una reversión hacia la neutralidad debida a la nueva degradación de los ácidos orgánicos en carbonatos, y al anhídrido carbónico, y posiblemente a la formación de compuestos de amonio por las proteínas que se encuentran en el medio. Asimismo, por debajo de un pH de 6,3, el ácido acético es convertido en acetoína y 2,3-butanediol, productos finales neutros; cesa la producción de H₂ mientras que aumenta la acumulación de CO₂. La validez de la prueba del rojo de metilo depende de un tiempo incubación suficiente como para permitir que se produzca la diferencia en el metabolismo de la glucosa. Los organismos en estudio se incubaran por lo menos 2 días a 35-37°C lo que permite que todos los organismos con baja proporción gaseosa (RM +) muestren su límite en la concentración de iones hidrogeno bajo pH terminal), mientras que los que tienen una alta relación gaseosa (RM -) mostrarán una menor concentración de hidrogeniones (alto pH terminal).

IV. MEDIO EMPLEADO: MEDIO DE CLARK Y LUBS (CALDO RM/VP), pH 6.9

A) Ingredientes.

a) Polipeptona o peptona amortiguada.	7g
b) Dextrosa (glucosa)	5g
c) Fosfato de potasio (K ₂ HPO ₄) (buffer)	5g
d) Agua destilada	1000ml

B) Productos comerciales.

- a) BBL.
- b) Difco.

C) Método de preparación

- a) Pesar exactamente las cantidades, de acuerdo con las indicaciones del prospecto
Los diferentes productos pueden
- b) variar ligeramente.

- c) Rehidratar con agua destilada o desmineralizada.
 - d) Calentar suavemente hasta disolución.
 - e) Distribuir en tubos, aproximadamente 5ml por tubo estéril
- D) Método de esterilización.
- a) Autoclave.
 - b) 121°C, 15 libras, 15min.
- E) Enfriar antes de su empleo y refrigerar para su conservación (4-10°C)
- F) Inoculación.
- a) Mínimo absoluto.
 - b) 35°C
 - c) 48 h.
 - d) Recomendada.
 - e) 30°C
 - f) De 3 a 5 días.
- G) Agregar indicador del pH rojo de metilo directamente a una alícuota incubada antes de intentar la interpretación.

V. REACTIVO EMPLEADO: INDICADOR DEL pH ROJO DE METILO

- A) Método de preparación.
1. Disolver 0,1 g de rojo de metilo en 300 ml de alcohol etílico de 95°.
 2. Agregar 200 ml de agua destilada a la mezcla alcohol - indicador.
- B) Método de utilización.
1. El medio inoculado de Clark y Lubs se emplea también para la reacción de VP, que se determina después de 24 a 48 h de incubación.
 2. Asépticamente, con pipeta, retirar una alícuota de 2,5 ml para la determinación del rojo de metilo.
 3. Agregar 5 gotas del indicador rojo de metilo a la alícuota.
 4. Interpretar el resultado de color inmediatamente.

C) Conservación: Guardar el reactivo en un refrigerador (4°C) mientras no se usa.

D) Química de la acción del reactivo: El rojo de metilo es un indicador que ya es ácido e indicara los cambios en el grado de acidez por reacciones de color, en una escala de pH 4.4 a 6. Con un pH de 4.4 o menos en el medio, el reactivo se

mantiene rojo, mientras que con disminución de la acidez y con un pH de 6, el indicador rojo de metilo vira a un color amarillo, que denota asimismo acidez, pero la concentración de iones hidrógeno es mucho menor. Con un pH de 5 a 5.8 se producen diferentes tonalidades de anaranjado.

VI. RESULTADOS

Se contrasta contra las fotografías en colores de los libros de bioquímica.

VII. INTERPRETACIONES

- A. Prueba RM positiva: el cultivo es lo suficientemente ácido como para permitir que el reactivo rojo de metilo mantenga un definido color rojo (pH: 4,4) en la superficie de medio.
- B. Prueba RM negativo: color amarillo (pH: 6) en la superficie del medio.
- C. Reacción retardada: color anaranjado. Continuar la incubación hasta 4 días y repetir la prueba.
- D. El grupo mutans es negativo a esta prueba.

6. REACCIÓN DE LA UREASA

I. PRINCIPIO

Determinar la capacidad de un organismo de desdoblar la urea, formando dos moléculas de amoníaco por acción de la enzima ureasa.

II. OBJETIVO

A) Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de *Proteus*, y se usa sobre todo para diferenciar los organismos *Proteus* rápidamente ureasa positiva de otros miembros de las *Enterobacteriaceae*; otros géneros pueden ser positivos retardados.

1. *Klebsiella* (+) de *Escherichia* (-).
2. *Proteus* (+, rápido) de *Providencia* (-).

B) Ayudar a la diferenciación de especies.

1. *Bordetella pertussis* (-) de *B. parapertussis* (+) y *B. bronchiseptica* (+).
2. *Moraxella phenypruvica* (+) de otras especies de *Moraxella*,
3. *Pasteurella pneumotronica* (+) y *P. ureae* (+) de *P. multocida* (-) y *P. haemolytica* (-).

4. *Yersinia pestis* (-) de *Y. Pseudotuberculosis* (+) y *Y. Enterocolítica* (+).

C) Ayudar a la identificación de:

1. *Bacillus lentus* (+).
2. *Pseudomonas cepacia* (*P. multivorans*) (+).

III. BASES BIOQUÍMICAS

El sustrato urea es una diamida del ácido carbónico, a la que frecuentemente se menciona como carbamida. Todas las amidas (RCO-NH_2) son rápidamente hidrolizadas. La hidrólisis de la urea es catalizada por una enzima específica, la ureasa, para dar dos moléculas de amoníaco. En solución, la urea se hidroliza, dando carbonato de amonio como producto final.

La ureasa es una importante enzima microbiana vinculada con la descomposición de los compuestos orgánicos. Las enzimas bacterianas se clasifican en constitutivas o adaptativas. Una enzima adaptativa o inducida es aquella que es producida por una bacteria solamente cuando se encuentra presente su sustrato específico. La ureasa es considerada una enzima constituida dado que es sintetizada por ciertas bacterias sin tener en cuenta la presencia o ausencia de su sustrato, la urea.

Existen dos grandes divisiones de las enzimas: 1) hidrolasas, que están vinculadas con la hidrólisis (agregado de agua) de los ésteres, hidratos de carbono, proteínas y amidas, 2) las que están relacionadas con diversas reacciones de oxidación-reducción.

La ureasa se clasifica como una amidasa, catalizando la hidrólisis de las amidas. Openheimer incluye en las amidas a todas las enzimas que son capaces de romper, por hidrólisis, el enlace entre el nitrógeno y el carbono. En el caso de la ureasa, el nitrógeno es disociado en amoníaco (NH_3). La ureasa (o urea amidohidrolasa) actúa sobre los enlaces C-N del compuesto, con excepción de los que contienen enlaces peptídicos.

El pH óptimo para la actividad de la ureasa es 7.

IV. MEDIOS EMPLEADOS: Caldo de urea de Rustigian y Stuart pH: 6.8

A) Ingredientes (medio general).

1. Fosfato monopotásico (KH_2PO_4)	9.1g
2. Fosfato de sodio (Na_2HPO_4)	9.5g
3. Extracto de levadura.	0.1g
4. Urea máxima pureza, 20%)	20g
5. Rojo de fenol	0.01g
6. Agua destilada	1000ml

Indicador del pH: rojo de fenol.

- a) Ácido color amarillo, pH: 6.8.
- b) Alcalino: color rojo rosado, pH: 8.4.

c) Medio no inoculado: 1) pH: 6.8: 2) color amarillo anaranjado.

B) Productos comerciales.

- a) Difco caldo de Urea.
- b) BBL: caldo para la reacción de la ureasa.

C) Método de preparación.

- a) Pesar las cantidades exactamente, de acuerdo con las indicaciones.
- b) Rehidratar con agua destilada o desmineralizada.
- c) No calentar para disolver. La urea se descompone con el calentamiento.

D) Método de esterilización recomendado.

- a) Filtración.
 - 1. Método del filtro de membrana Millipore.
 - 2. Membranas: 0.45 u diámetro del poro.

E) Procedimiento.

- a) Asépticamente distribuir en tubos aproximadamente 3ml por tubo estéril.
- b) Si el medio es preparado o inoculado inmediatamente, no es necesaria la filtración; pueden obtenerse resultados confiables.
- c) El medio básico puede ser rehidratado en 900ml de agua destilada y esterilizado en autoclave a 121°C a 15 libras durante 15 minutos. Mientras se está enfriando se agregan 100ml de una solución de urea estéril (filtrada) al 20%, y se distribuye en tubos (en volúmenes de 3ml por tubo estéril).

F) Dejar enfriar antes de su uso y refrigerar para su conservación (4-10°C).

G) Inoculación.

- a) Crecimiento de un cultivo puro de 18 a 24 h (AHK u otro cultivo adecuado).
- b) Inoculo denso: la cantidad recogida con el asa de inoculación (de 2mm) tres veces.
- c) Agitar suavemente el tubo para lograr la suspensión de bacterias.

H) Incubación.

- a) Incubadora o baño de agua a 35°C.
- b) Observar las reacciones después de 8, 12, 24, y 48 h de incubación.
- c) Con el cambio de la temperatura se producen cambios en la velocidad de la producción de la ureasa.

V. RESULTADOS

El grupo mutans es negativo a este cultivo.

VI. INTERPRETACIONES

1. Reacción positiva

- a) Color rojo rosado intenso en todo el caldo.
- b) Solamente especies de *Proteus*

2. Reacción negativa: no se produce cambio de color (amarillo anaranjado)

Referencia:

CURRICULUM VITAE

NOMBRE: Teresa Leonor Sánchez Pérez.

LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO: México, D.F. 16-11-52

NOMBRE DE LOS PADRES: Camilo Sánchez Alvarez.

María del Carmen Pérez Lizárraga.

ESTUDIOS PROFESIONALES:

Licenciatura: Facultad de Odontología.
Universidad Nacional Autónoma de México.
1972-1975

Especialidad: Facultad de Odontología.
Universidad Nacional Autónoma de México.
1991-1993

Maestría: Facultad de Odontología.
Universidad Nacional Autónoma de México.
1993-1995

Doctorado: Facultad de Odontología.
Universidad Nacional Autónoma de México.
1996-1999

EXPERIENCIA PROFESIONAL:

Profesor investigador. Departamento de Atención a la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Desde 1978 a la fecha.

Profesor por intercambio académico en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Profesor de Metodología de Investigación Científica. Escuela Militar de Odontología. Universidad del Ejército y Fuerza Aérea. 1986-1993

DOMICILIO PERMANENTE:

Cerrada de Tabaqueros 25 casa 4 San Nicolás Totolapan. Del. Magdalena Contreras. C.P. 10900. Tel. 5644- 56- 76