



Estreptococos cariogénicos predominantes, niveles de infección e incidencia de caries en un grupo de escolares. Estudio exploratorio

D. en C. Leonor Sánchez-Pérez,* Ph D. Enrique Acosta Gío**

* Departamento de Atención a la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco.

** Laboratorio de Microbiología. Departamento de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología. Universidad Nacional Autónoma de México.

Resumen

Objetivo: Estudiar la distribución de estreptococos cariogénicos, niveles de infección y su asociación con la incidencia de caries. **Metodología:** Sesenta escolares (8 y 10 años), seguidos durante 18 meses. Se registró caries, niveles bacterianos de estreptococos en muestras de placa; por medio de análisis bioquímico se hizo la tipificación bacteriana, se calculó la incidencia de caries en el molar muestreado. **Resultados:** El 80% de los estreptococos correspondieron al grupo *mutans* (40% *S. sobrinus*, 32% *S. mutans*, 5% *S. rattus* y 3% *S. cricetus*). El 20% restante correspondió a otros estreptococos (*S. salivarius*, *S. mitis* y *S. sanguis*). El 55% de los niños presentó conteos $\geq 10^5$ ufc/mL en placa y el 30% desarrolló caries en el molar estudiado. Un modelo de regresión logística múltiple de pasos sucesivos mostró asociación entre la bacteria predominante y los niveles de infección ($P < 0.01$). No se demostró asociación entre bacteria predominante e incidencia de caries ($P > 0.05$). Sin embargo con el mismo modelo ponderado según los niveles de infección, mostró una asociación significativa ($P < 0.0018$). **Conclusión:** La asociación de cepas de estreptococos con la incidencia de caries en niños es dependiente del nivel de infección.

Palabras clave: Estreptococos mutans, cepas de estreptococos, incidencia caries, prevalencia, modelo de regresión logística.

Abstract

Objective: To explore the distribution of cariogenic streptococci, infection level and their relationship with incidence of caries. **Materials and method:** 60 school-children (8 to 10 years of age) followed 18 months. Caries was registered, bacterial counts of streptococci in dental plaque were obtained; by means of biochemical analysis the bacterial typification was obtained, the caries incidence was calculated for the sampled molar. **Results:** 80% of the streptococci were from the group *mutans* (40% *S. sobrinus*, 32% *S. mutans*, 5% *S. rattus* y 3% *S. cricetus*). The remaining 20% were other Streptococci (*S. salivarius*, *S. mitis* and *S. sanguis*). Fifty five percent of children presented counts of $\geq 10^5$ cfu/mL in dental plaque and 30% developed caries in the studied molar. A model of multiple logistic regression of successive multiple steps showed an association between predominant bacteria and level of infection ($P < 0.01$). No association between predominant bacteria and caries incidence was demonstrated ($P > 0.05$). However the same model considered for infection level showed a significant association ($P < 0.0018$). **Conclusion:** The association of streptococci strains with caries incidence in children is related to the infection level.

Key words: Mutans streptococci, streptococci strains, caries incidence, prevalence, multiple logistic model.

Introducción

El desarrollo de una lesión de caries es un proceso multifactorial, que se inicia a partir de la ingestión de sacarosa en la dieta, cuando los microorganismos metabolizan glucosa y liberan ácidos orgánicos, como el láctico, propiónico y acético (entre otros), que ocasionan la disolución o desmineralización del esmalte.¹

Las evidencias de que los microorganismos son esenciales en la producción de caries, se ha obtenido por investigaciones experimentales que mostraron que los animales exentos de gérmenes no desarrollaron caries cuando fueron alimentados con una dieta altamente cariogénica y desarrollaron la enfermedad cuando se introdujeron bacterias en las mismas condiciones.²⁻⁵

En modelos animales, los microorganismos que han demostrado ser cariogénicos a nivel coronal son, en mayor o menor proporción, especies homo y heterofermentativas; entre las más frecuentes están cuatro tipos de estreptococos:

Streptococcus (S) mutans o grupo *mutans*, *S. salivarius* (grupo *salivarius*), *S. mitis* y *S. sanguis* (grupo *oralis*). Además, se encuentran dos tipos de lactobacilos: cepas de *Lactobacillus (L) casei* y de *L. acidophilus*. Todas estas bacterias son acidógenos y acidófilos y comprenden menos del 1% del total de microorganismos cultivables de la flora bucal.^{3,6-9}

Diversos investigadores han demostrado por medio de estudios microbiológicos en serie, que los estreptococos *mutans* son la especie que se asocia con mayor certeza a la iniciación de la caries en el ser humano.^{1,9,10} El grupo *mutans* posee características, tanto de actividad bioquímica como fisiológica, que se asocian con la cariogenicidad, una de las cuales y de gran importancia, es la coagregación.¹¹

Esta capacidad de coagregar microorganismos, es un mecanismo importante para la retención de bacterias en la cavidad bucal, lo que permite que especies normalmente no adherentes al diente, o a la mucosa, puedan persistir; esta adhesividad, el nivel de infección y la velocidad en la formación de la placa dental son parte de los factores más importantes en el desarrollo de la caries.¹² Acompañando este fenómeno de coagregación,¹³ cuando se toman muestras de estreptococos de diferentes lugares de la boca (diversos sitios de caries, o saliva en individuos con o sin caries activa), se observa que éstos presentan heterogeneidad serológica (8 serotipos), los cuales se pueden reconocer por su carbohidrato antigénico y su ácido desoxirribonucleico, revelando la existencia de seis grupos genéticos.^{12,13}

Las genoespecies del grupo *mutans* son: *S. mutans* (carbohidratos antigénicos c, e, y f), *S. sobrinus* (carbohidrato antigénico g), *S. downei* (carbohidrato antigénico g),

S. rattus (carbohidrato antigénico b), *S. cricetus* (carbohidrato antigénico a) y *S. macacae* (carbohidrato antigénico c aislado en monos).

Ahora bien, *S. mutans*, *sobrinus*, *rattus* y *cricetus* son cariogénicos en modelos animales, su similitud en patogénesis ha llevado a la mayoría de los investigadores a designar a estos estreptococos con el epíteto generalizado de *S. mutans*, aunque en el ámbito del diagnóstico bioquímico son diferentes.¹²⁻¹⁴

El propósito de este estudio fue hacer la caracterización bioquímica de los estreptococos predominantes en las fosetas y fisuras del primer molar inferior de un grupo de niños, asociándola con los niveles de infección y con la incidencia de caries dental en ese molar.

Metodología

Sujetos. Por medio de un muestreo no probabilístico, se estudiaron 60 escolares (30 niños y 30 niñas) entre 8 y 10 años, asistentes a una escuela pública en el sur del D.F. Estos niños tenían integridad de los primeros molares inferiores, el proceso de caries, de existir, se encontraba circunscrito a fisuras y fosetas de la superficie oclusal. Las condiciones del muestreo fueron que no hubiera diferencias estadísticamente significativas en la distribución por edad y sexo en la población estudiada ($P > 0.7700$), ni tampoco diferencias significativas en la distribución del proceso de caries por edad y género ($P > 0.9384$). Los escolares no estuvieron en tratamiento antibacteriano cuando menos dos semanas antes del muestreo bacteriológico. El *cuadro I*, muestra la distribución de los sujetos de estudio según edad y género. Se contó con el consentimiento informado de los padres.

Registro de caries. Dos investigadores inter-intracalibrados (Kappa 0.92, $P < 0.01$) realizaron los exámenes clínicos con luz natural, fuera de los salones de clase, con espejos dentales planos del No. 5 y sondas periodontales tipo E; según los criterios y recomendaciones de la OMS¹⁵ no se usaron radiografías.

El examen fue repetido 18 meses (± 1 mes) después de que el muestreo bacteriológico fue realizado y se registró toda nueva lesión. El incremento neto de caries fue calcu-

Cuadro I. Edad y género de los niños estudiados.

Edad	Sexo		Total
	Masculino	Femenino	
8	5	5	10
9	10	10	20
10	15	15	30
Total	30	30	60

lado para cada niño. Este examen se realizó sin que los examinadores tuvieran acceso a la información previa.

Recolección de las muestras bacteriológicas. Se obtuvo una muestra de placa dentobacteriana de la fisura central de los molares inferiores con una aguja estéril, siguiendo la técnica descrita por Loesche,^{6,17} aproximadamente 2 horas después de haber ingerido alimentos.¹⁸ La aguja fue colocada en 3 mL del medio de transporte VG-MII¹⁹ que contenía pequeñas perlas de vidrio para facilitar su posterior dispersión; las muestras fueron colocadas en hielo a 4 °C y transportadas al laboratorio para ser procesadas antes de 2 horas después de su obtención.

Estudio bacteriológico. Las muestras de placa fueron homogeneizadas en un Vortex Genie 2 mixer (Scientific Industries Inc. Springfield Mass) por 30 segundos e inoculó el medio TSY20B²⁰ con 0.1 mL del medio de transporte sin diluir; el inóculo fue dispersado por duplicado en cada plato con un rodillo de cristal estéril. Los platos fueron incubados a 37 °C por 72 horas en jarras con candela. Después de la incubación los platos se mantuvieron a temperatura ambiente por 24 horas antes de realizar las lecturas.

La identificación del grupo *mutans* se basó en la morfología de las colonias, la observación microscópica y la tinción de Gram.

Pruebas bioquímicas utilizadas. Las colonias representativas fueron sembradas nuevamente en agar sangre (DIFCO) adicionado con sangre de cordero desfibrinada y fueron cultivadas por 24 horas en jarras con candela; posteriormente se aplicó la siguiente batería de pruebas bioquímicas: prueba de hidrólisis de la esculina en medio con bilis, prueba de la descarboxilasa (producción de amoníaco a partir de la arginina), prueba de la catalasa, prueba

del rojo de metilo en caldo RM/Vogues-Proskauer y reacción de la ureasa. Con la finalidad de medir la capacidad de cada cepa aislada de fermentar azúcares se aplicó la siguiente batería de azúcares: lactosa, rafinosa, sorbitol, manitol, inulina y melibiosa.

Todos los tubos fueron sembrados y catalogados por el mismo investigador. La identificación del serotipo se hizo siguiendo los esquemas de identificación de Slotz y Taubman.²¹

Procedimientos estadísticos. Se analizó la asociación estadística entre las variables clínicas (prevalencia caries en el primer molar muestreado e incidencia en el mismo diente) y el tipo de bacteria por medio de la prueba χ^2 . Se hizo un análisis de regresión logística para evaluar las asociaciones de las variables por medio de un modelo multivariado. Se realizó un análisis por pasos para establecer las principales interacciones. Se calcularon los coeficientes de correlación de Spearman entre tipo de bacteria predominante, niveles de infección y caries.

Resultados

Biotipificación de los estreptococos de la PDB. En el *cuadro II*, se describe la identificación bioquímica y los niveles de infección de los estreptococos realizados a partir del muestreo de placa dentobacteriana de fosetas y fisuras del primer molar inferior: el 80% de los microorganismos identificados correspondieron al grupo *mutans* y el 20% restante a estreptococos de otros grupos.

Del grupo *mutans*, los estreptococos identificados en orden de importancia fueron: *S. sobrinus*, *S. mutans*, *S. rattus* y *S. cricetus*. Se caracterizaron como colonizadores predominantes de fisuras oclusales otros grupos de

Cuadro II. Aislados predominantes, ufc/mL e incremento de caries después de 18 meses de estudio.

Tipo bacteriano	Cuentas de estreptococos ufc/mL		Total		Incremento de caries en el primer molar estudiado	
	< 10 ⁵	≥ 10 ⁵	n	%	No	Sí
	n	n				
Grupo <i>mutans</i>						
<i>S. mutans</i>	11	8	19	31.7	13	6
<i>S. sobrinus</i>	7	17	24	40.0	15	9
<i>S. rattus</i>	2	1	3	5.0	2	1
<i>S. cricetus</i>	2	—	2	3.3	2	—
Otros estreptococos						
<i>S. salivarius</i>	3	1	4	6.7	4	—
<i>S. sanguis</i>	2	4	6	10.0	5	1
<i>S. mitis</i>		2	2	3.3	1	1
Total	27	33	60	100.0	42	18

Valor de $\chi^2 = 12.20307$; $p < 0.0159$; $r = 0.2746$; $p < 0.0337$, coeficiente de correlación de Spearman.

estreptococos, los cuales fueron: *S. sanguis*, *S. mitis* y *S. salivarius*.

Al 45% (n = 27) de los niños se les registraron conteos $< 10^5$ ufc/mL de medio de transporte, mientras que el 55% de los niños (n = 33) tuvo conteos microbianos $\geq 10^5$. Los niños a los que se les identificó *S. mutans* y *S. sobrinus* fueron los que presentaron los niveles de

infección más elevados, 8 de 19 y 17 de 24, respectivamente.

Al aplicar un análisis logístico ordinal se halló que los niveles de infección de las bacterias estaban asociadas al biotipo predominante, con una $P < 0.0415$. Después de 18 meses de estudio, los niños con *S. cricetus* y *S. salivarius* no desarrollaron caries. Los niños con *S. rattus* (1 de 3) y *S. sanguis* (1 de 6) desarrollaron caries en el molar muestreado con al menos dos nuevas superficies afectadas por caries, estos niños concordaron con conteos $\geq 10^5$ ufc/mL.

De los 2 niños con *S. mitis* uno desarrolló caries y el otro no; a ambos se les habían registrado conteos microbianos $\geq 10^5$. Los estreptococos del grupo *mutans*, *S. mutans* y *S. sobrinus* mostraron la mayor actividad cariogénica 32% (6 de 19) y 38% (9 de 24) respectivamente. La mayoría de estos niños presentaron cuentas $\geq 10^5$ ufc/mL.

No se pudo establecer la asociación entre las variables de tipo de bacteria e incidencia de caries $p > 0.5078$. El coeficiente de correlación establecido también fue débil y no significativo $r' = 0.1534$; $p > 0.241$.

En el *cuadro III* se presenta el modelo de regresión lineal utilizado para analizar la asociación entre los biotipos predominantes y la incidencia neta de caries en el primer molar muestreado con la ponderación de los niveles de infección establecidos, habiendo sido significativo.

Se procedió entonces, a establecer las posibles interacciones entre los niveles de infección, los biotipos pre-

Cuadro III. Modelo de regresión lineal ponderando las ufc/mL entre el tipo de bacteria aislada y el incremento neto de caries en el primer molar inferior muestreado.

Tipo aislado	Estimador	Error estándar	t Ratio	P > [t]
Intercepto	+0.668	1.887	0.35	0.724
Grupo <i>mutans</i>				
<i>S. mutans</i>	+0.053	1.902	0.03	0.977
<i>S. sobrinus</i>	+0.133	1.892	0.07	0.944
<i>S. rattus</i>	+2.328	1.948	2.87	0.006
<i>S. cricetus</i>	-0.668	11.169	-0.06	0.952
Otros estreptococos				
<i>S. salivarius</i>	-0.668	2.478	-0.27	0.788
<i>S. sanguis</i>	-0.630	1.974	-0.32	0.751
<i>S. mitis</i>	-0.546	1.969	-0.28	0.782
R ² %	30.120			
Prob > F	0.020			

Cuadro IV. Modelo de interacciones entre tipo aislamiento e incremento neto de caries.

Parámetros analizados	Estimador	gl	SS	F Ratio	Prob > F
Intercepto	+ 0.582	1	0	0	1
ufc/mL $\leq 10^3$ - 10^4 & 10^5 & 10^6	-0.200	8	14.103	3.075	0.008
ufc/mL $10^3 \leq 10^3$	-0.209	1	0.525	0.915	0.344
ufc/mL 10^5 & 10^4 - 10^6	-0.113	6	11.914	3.463	0.007
ufc/mL 10^5 - 10^4	-0.979	4	6.380	2.782	0.038
<i>S. cricetus</i> & <i>S. salivarius</i> & <i>S. sanguis</i> - <i>S. mutans</i> & <i>S. sobrinus</i> & <i>S. rattus</i> & <i>S. mitis</i>	-0.135	10	14.285	2.492	0.018
<i>S. cricetus</i> & <i>S. salivarius</i> - <i>S. sanguis</i>	-0.371	3	2.275	1.323	0.279
<i>S. cricetus</i> - <i>S. salivarius</i>	+0.124	2	1.330	1.160	0.323
<i>S. mutans</i> & <i>S. sobrinus</i> - <i>S. rattus</i> & <i>S. mitis</i>	-0.336	6	13.227	3.845	0.004
<i>S. mutans</i> - <i>S. sobrinus</i>	+0.013	2	2.337	2.038	0.142
<i>S. rattus</i> - <i>S. mitis</i>	-0.765	2	9.307	8.116	0.001
ufc/mL 10^5 & 10^4 - 10^6 * <i>S. rattus</i> - <i>S. mitis</i>	-2.221	1	9.296	16.214	0.000
ufc/mL 10^5 - 10^4 - <i>S. salivarius</i> - <i>S. cricetus</i>	-0.979	1	1.265	2.207	0.144
ufc/mL 10^5 - 10^4 * <i>S. mutans</i> & <i>S. sobrinus</i> - <i>S. rattus</i> & <i>S. mitis</i>	+1.060	1	3.757	6.553	0.014
ufc/mL 10^5 - 10^4 * <i>S. mutans</i> & <i>S. sobrinus</i>	- 0.352	1	2.278	3.974	0.050

ufc/mL = Unidades formadoras de colonias por mililitro de medio inoculado. SS = Suma de cuadrados, gl = Grados de libertad.

dominantes y la incidencia neta de caries en el molar estudiado, por medio de un análisis de pasos sucesivos.

Los resultados de esta estrategia de análisis se describen en el *cuadro IV*, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de caries entre conteos microbiológicos $\leq 10^3$ y conteos microbianos $\geq 10^4$ ($p < 0.0075$), entre conteos $10^4 - 10^5$ y 10^6 ($p < 0.0067$). Entre los biotipos *S. cricetus*, *S. salivarius* y *S. sanguis* y un agrupamiento de los estreptococos que produjeron más lesiones: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. rattus* y *S. mitis*, con diferencias significativas en el desarrollo de lesiones ($p < 0.017$); y con una mayor capacidad cariogénica *S. mutans* y *S. sobrinus* sobre *S. rattus* y *S. mitis* ($p < 0.001$).

De las interacciones más importantes destacamos: *S. rattus* y *S. mitis* a mayor nivel de infección (10^6), mayor incidencia de caries ($p < 0.0002$); *S. mutans* y *S. sobrinus* con niveles de infección más bajos (10^4 y 10^5) mayor incidencia neta de caries ($p < 0.050$).

Discusión

Esta investigación se enmarca en la línea de investigaciones prospectivas sobre la historia natural de la caries dental en niños mexicanos que la UAM-Xochimilco desarrolla a través del área de investigación en Ciencias Clínicas, que ha realizado diferentes aportes internacionales tanto a nivel epidemiológico²² como en modelos de identificación y determinación de riesgos para caries dental.^{23,24}

En este estudio los estreptococos que se identificaron en las fisuras oclusales de los niños que desarrollaron nuevas lesiones de caries a los dieciocho meses siguientes al muestreo bacteriológico fueron el *S. sobrinus*, *S. mutans*, *S. rattus*, *S. mitis* y *S. sanguis*.

Los porcentajes obtenidos de estreptococos cariogénicos (80%) y otros estreptococos (20%) coinciden con los datos reportados en la literatura;²⁵ esta distribución del grupo *mutans* es similar a la de otras evidencias que reportan como bacteria predominante a *S. sobrinus*, como es el caso de Suecia con 93% de prevalencia,²⁶ Australia 35% y Japón 45%.¹³ Sin embargo, la distribución es diferente de algunas otras evidencias para América Latina que reportan predominio del *S. mutans* como es el caso de Argentina,²⁷ y Chile,²⁸ una población rural mexicana estudiada en 1990,²⁹ y otros países de Europa y África.²⁶

Desde luego hay que considerar que la comparación de los resultados se ve limitada por las diferentes técnicas empleadas para la identificación de las bacterias que pueden ir desde la bioquímica como es nuestro caso, hasta el uso de anticuerpos policlonales y análisis de ADN.²⁶

Sin embargo, son importantes los hallazgos de estreptococos del tipo *rattus* y *cricetus*, ya que estas bacterias sólo han sido reportadas con anterioridad en algunas po-

blaciones de África, Japón e Islas del Pacífico Sur.¹³ El *S. rattus* en los países desarrollados sólo se ha encontrado en especímenes de laboratorio y ha sido aislado ocasionalmente en placa dentobacteriana en humanos, como fue nuestro caso.

Una posible explicación de este hallazgo, es que en la zona donde se realizó el estudio (Tláhuac), considerada como de transición rural urbana, las madres de estos niños pueden haber estado colonizadas por esta bacteria. Está bien documentado que las principales fuentes de transmisión de la flora cariogénica son la madre o el cuidador principal o que estos niños pudieran haber consumido de manera frecuente maíz contaminado por ratas.

El principal problema de la distribución del grupo *mutans* que aquí se reporta, es que la cariogenicidad de éstos, se centra en su capacidad de sintetizar polisacáridos intracelulares a partir de concentraciones elevadas de carbohidratos. La mayoría de los estreptococos del grupo *mutans* pueden almacenar estos polisacáridos intracelulares en grandes cantidades, lo que contribuye a la patogenicidad de los microorganismos.^{12,13,30,31} Este almacenaje es el origen del ácido, cuando los carbohidratos exógenos no son suficientes o están ausentes. Las cepas de *S. sobrinus* que fue el estreptococo predominante en estos niños, producen y metabolizan menos polisacáridos extracelulares que las cepas de *S. mutans* y son consideradas como las más cariogénicas, debido a que toda la glucosa disponible puede ser utilizada en la producción de ácidos.³² Esta información apoya la necesidad de aplicar medidas de protección.

Por otro lado, existen evidencias acerca de la fuerte asociación que existe entre los niveles de infección de una superficie oclusal específica y la subsiguiente lesión de caries.^{1,12,13,32,33} De los niños estudiados el 45% ($n = 27$) presentaron conteos $< 10^5$ ufc/mL, el 22% ($n = 6$) desarrollaron lesiones de caries en el molar estudiado. En este sentido, se ha descrito que se pueden desarrollar lesiones de caries, aun en ausencia de niveles detectables de las bacterias cariogénicas,^{20,32-34} sugiriendo que es posible que otras bacterias de reservorios naturales infecten las fisuras oclusales y se desarrolle la enfermedad.

La información obtenida sobre la interacción de los diversos estreptococos con los niveles de infección, nos sugiere considerar, cuando menos para la población estudiada que *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. rattus* y *S. mitis* a niveles de infección entre 10^4 y 10^5 son las bacterias que se asociaron con mayor fuerza al desarrollo de nuevas lesiones.

Ahora bien, la explicación más plausible para haber identificado *S. salivarius*, *S. mitis* y *S. sanguis* es que estos niños debieron de haber tenido fisuras y fosetas oclusales poco profundas y la placa dentobacteriana de esta zona debió de haber estado en formación, ya que

estos estreptococos son colonizadores iniciales de las superficies dentales, o están presentes en superficies aseptadas recientemente.^{25,35-38}

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, ya que solamente es necesario que alguno de los factores que lo determinan se altere, para que el equilibrio establecido entre los procesos de remineralización y de desmineralización del esmalte se vean afectados con el subsiguiente desarrollo de la lesión.

Conclusiones

Las implicaciones de estos hallazgos, por un lado, son que las bacterias predominantes en la boca de los niños estudiados son las más cariogénicas, y por el otro, es que más de la mitad de los escolares se registraron con niveles de infección altos, binomio que a corto plazo modificará en sentido negativo la salud bucal de nuestros niños.

Agradecimientos

A la M.M.S. Laura Patricia Sáenz Martínez que colaboró en la recolección de los índices de caries y al Dr. Pedro Arroyo por la revisión del manuscrito.

Bibliografía

1. Bratthall D, Carlsson P. Clinical microbiology of saliva. In: Tenovuo JO, (Ed). *Human Saliva: Clinical Chemistry and Microbiology*. Boca Raton FL, CRC Press 1987: 204-223.
2. Fitzgerald RJ. Dental caries research in gnotobiotic animal. *Caries Res* 1968; 2: 139-146.
3. Fitzgerald RJ, Jordan HV, Stanley HR. Experimental caries an gingival pathologic changes in the gnotobiotics rats. *J Dent Res* 1960; 39: 923-935.
4. Krasse B, Carlsson J. Various types of streptococci and experimental caries in hamsters. *Arch Oral Biol* 1970; 15: 25-32.
5. Mikx FH, van der Hoeven JS, König KG, Plasschaert AJ, Guggenheim B. Establishment of defined microbial ecosystems in germfree rats. One effect to the interaction of *Streptococcus mutans* or *Streptococcus sanguis* with *Veillonella* alcalences on plaque formation and caries activity. *Caries Res* 1972; 6: 211-221.
6. 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.
7. Rosen S, Lenny WS, O'Malley JE. Dental caries in gnotobiotic rats inoculated with *Lactobacillus casei*. *J Den Res* 1968; 47: 358-363.
8. Kelstrup HJ, Gibbons RJ. Induction of dental caries and alveolar bone loss by human isolate resembling *Streptococcus salivarius*. *Caries Res* 1970; 4: 360-377.
9. Carlsson J, Grahnen H, Jonsson G. *Lactobacilli* and *Streptococci* in mouth of children. *Caries Res* 1975; 9: 333-339.
10. Tenovuo JO. *Human saliva: clinical chemistry and microbiology*. Vol. II CRC. Press. Inc. Boca Raton Florida, 1987.
11. Patrikakis M, Hartly DWS. Co-aggregation by Oral gram + bacteria. *J Dent Res* 1992; 4: 988; 95.
12. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev* 1980; 44: 331-384.
13. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986; 50: 353-380.
14. Loesche WJ. *Dental caries: a treatable infection*. Charles C. Thomas, Publisher. Springfield. 1982.
15. World Health Organization. Oral health surveys. *Basic methods*. 4th ed. Geneva. WHO. 1994.
16. Loesche WJ, Hockett RN, Syed SA. The predominant cultivable flora of tooth surface plaque removed from institutionalized subjects. *Arch Oral Biol* 1972; 17: 1311-1325.
17. Loesche WJ, Straffon LH. Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. *Infect Immun* 1979; 26: 498-507.
18. Larmas M. Saliva and dental caries: diagnostic tests for normal dental practice. *Int Dent J* 1992; 42: 199-206.
19. Moller AJR. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies. Thesis. *Odontology Tidskr* 1966; 74(Suppl): 1-380.
20. Schaeken MJM, Creugers TJ, van der Hoeven JS. The relationship between dental plaque indices and bacteria in dental plaque and those in saliva. *J Den Res* 1987; 66: 1499-1502.
21. Slotz J, Taubman MA. *Contemporary oral microbiology and immunology*. 1st Edition. St. Louis, Missouri. Mosby-Year Book, Inc. 1992: 420.
22. Velásquez MO, Vera HH, Irigoyen CME, Mejía GA, Sánchez PTL. Cambios en la prevalencia de la caries dental en escolares de tres regiones de México: Encuestas 1987-1988 y 1997-1998. *Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health* 13(5): 320-326.
23. Sánchez-Pérez L, Acosta-Gío E. Caries risk assessment from dental plaque and salivary *Streptococcus mutans* counts on two culture media. *Archives of Oral Biology* 2001; 46: 49-55.
24. Sánchez-Pérez L, Acosta-Gío E, Méndez-Ramírez I. A cluster analysis model for caries risk assessment. *Arch Oral Biol* (In press) 2004.
25. van Houte J, Sansone C, Joshupura K, Kent R. *Mutans* Streptococci and non mutans Streptococci acidogenic at low pH and *in vitro* acidogenic potential of dental plaque in two different areas of the human dentition. *J Dent Res* 1991; 70(12): 1503-1507.
26. van Palenstein HWH, Matee MIN, van der Hoeven JS, Mikx FHM. Cariogenicity depends more on diet than the prevailing *mutans* streptococcal species. *J Dent Res* 1996; 75: 535-542.
27. Cazabat MC, Bordoni N, Piovano S, Marcantoni M, Didiego M, Tchtenschwiaide R. Identificación de biotipos de *Streptococcus mutans* en la dentición primaria. *Rev Asoc Odonto Argent* 1980; 68: 90-94.
28. Linossier A, Pizarro F, Pedro P, Silva N, Zillmann G. Frecuencia de biotipos de *Streptococcus mutans* en escolares chilenos. *Rev Med Chile* 1987; 115: 411-415.

29. Del Río I. Dental caries and *mutans* Streptococci in selected groups of urban and native Indian school children in Mexico. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991; 19: 98-100.
30. Berman KS, Gibbons RJ. Lodophilic polysaccharide synthesis by human and rodent oral flora. *Arch Oral Biol* 1966; 11: 533-542.
31. Gibbons RJ, Socransky S. Intracellular polysaccharide storage by organisms in dental plaques. *Arch Oral Biol* 1962; 7: 73-80.
32. Ikeda T, Sandham HJ. Prevalence of *Streptococcus mutans* on various tooth surfaces in Negro children. *Archs Oral Biol* 1971; 16: 1237-1240.
33. Bratthall O. The global epidemiology of *mutans* streptococci. In: Johnson NW. ed. *Risk markers for oral disease*. Dental caries. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1991; 1: 287-312.
34. Bowden GH. Does assessment of microbial composition of plaque/saliva allow for diagnosis of disease activity of individuals? *Community Dent Oral Epidemiol* 1997; 25: 76-81.
35. Shklair IL, Keene HJ, Cullen P. The distribution of *Streptococcus mutans* on the teeth of two groups of naval recruits. *Arch Oral Biol* 1974; 19: 199-202.
36. Nyvad B, Kilian M. Microflora associated with experimental root surface caries humans. *Infect Immuns* 1990; 58: 1628-33.
37. Kilian M, Reinholdt J, Nyvad B, Frandsen EV, Mikkelsen L. Ega 1 proteases of oral streptococci: ecological aspects. *Immunol Invest* 1989; 18: 161-170.
38. van Houte J, Aasenden R, Peebles TC. Oral colonization of *Streptococcus mutans* in human subjects with low caries experience given fluoride supplements from birth. *Archs Oral Biol* 1978; 23: 361-366.

Reimpresos:
 Dra. Leonor Sánchez Pérez
 Calzada del Hueso Núm. 1100
 Edificio H 101
 Col. Villa Quietud
 04960 México D.F.
 Fax y Tel. 54-83-72-42
 E-mail: tlsperez@xoc.uam.mx
 Este documento puede ser visto en:
www.medigraphic.com/adm