

Predicción de caries. Indicadores de riesgo en saliva y placa dental en niños sanos

(Biochemical and bacteriological markers in the prediction of caries in healthy children)

Leonor Sánchez-Pérez,* Laura Sáenz Martínez,* Esther Irigoyen Camacho,* Isabel Luengas Aguirre,* Jorge Tomasis García**

RESUMEN

Objetivo. Identificar marcadores bucales que permitan identificar niños a riesgo de caries dental en niños sanos.

Material y métodos. A 66 niños sin caries, de 6 años de edad, se les midió el volumen de flujo salival y la velocidad de acidificación de la saliva. Se les cuantificaron las bacterias mutans y lactobacilos, en saliva y la placa dental. Treinta meses después, se les examinó para conocer quiénes tenían caries y saber qué indicador estaba asociado con la caries.

Resultados. Treinta y cinco por ciento de los niños desarrolló alguna lesión. La velocidad de acidificación salival fue el indicador con mayor certeza diagnóstica ($p < 0.016$); este indicador tuvo una sensibilidad de 78% para identificar a los niños con caries y su especificidad fue de 82%.

Conclusiones. La velocidad de acidificación permite identificar, con cierto margen de certeza los niños que no tendrán caries: especificidad de 82%.

Palabras clave: Caries dental, estreptococo mutans, lactobacilos, prueba Snyder, placa dental.

SUMMARY

Objective. To identify oral variables that could be used as predictors for identification children at risk of dental caries.

Material and methods. Sixty six children of 6 years old, without caries, were studied for the measured of salivary flow and the acidification of the saliva. The bacterias mutans and lactobacilos were quantified in saliva and dental plaque. Thirty months later, they were examined to know which one have caries, in order know its association to the variables studied before.

Results. Thirty five percent the children's developed some caries lesion. The acidification velocity of saliva was the best indicator for caries prediction ($p < 0.016$); this indicator had a sensibility of 78% in the identification of the children which developed caries but its specificity was better (82%) for children which will have.

Conclusions. The acidification velocity of saliva makes the possibility to identify the velocity of biofilm acidification.

Key words: Dental caries, Streptococcus mutans, lactobacilos, Snyder test, dental plaque.

La caries dental se considera una enfermedad multifactorial factible de ser prevenida¹ pero que en un estado avanzado es irreversible, lo que ha motivado la búsqueda de indicadores que permitan predecir su aparición.² De esta manera se ha iniciado la búsqueda para identificar a quienes por razones naturales, están sujetos a ma-

yor riesgo de padecer caries.³ A este respecto, hay evidencias de que algunas bacterias (Estreptococo mutans y lactobacilos) se asocian con el inicio y desarrollo de la lesión dental,⁴ por lo que las colonias de estas bacterias en la superficie de los dientes es uno de los factores relacionados con esta enfermedad, razón suficiente para insistir en la limpieza de los dientes.⁵

Estas estrategias para identificar estos riesgos: en la saliva y dientes, han sido ampliamente documentados,^{6,7} sin embargo, los indicadores han mostrado una baja sensibilidad y especificidad en niños con un riesgo bajo de caries,⁸ es decir, en quienes aquéllos libres de caries,

* Departamento de Atención a la Salud. Área de Investigación en Ciencias Clínicas. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

** Sección de Odontología Integral de la Unidad de Especialidades Odontológicas, Secretaría de la Defensa Nacional, México, D.F.

lo que ha dado lugar a poner en duda su validez predictiva en niños sin evidencias de enfermedad.

En estudios longitudinales⁹ hemos encontrado que 20% de los niños sanos desarrollan alguna lesión de caries en el lapso de dos años, por lo que es conveniente contar con indicadores de riesgo en esta población de niños. Por esa razón, se planeó estudiar el comportamiento de los indicadores salivales y bacteriológicos más usados¹⁰ para identificar aquel que pudiera servir como indicador de riesgo para identificar a los niños que tuviesen una mayor susceptibilidad de enfermar. Estos niños se mantuvieron libres de caries de los seis a los siete años y medio, pero la erupción dental es un evento de riesgo para caries: por el desequilibrio en el ecosistema bucal,¹¹ por lo que se decidió mantenerlos en observación por un año más. En este reporte se analiza cuál indicador de riesgo podría identificar el desarrollo de caries en estos niños.

MATERIAL Y MÉTODOS

De una cohorte de niños, de un reporte previo,¹⁰ sobre la caracterización salival y microbiológica de niños libres de caries, se seleccionaron 66 escolares de ambos sexos entre 6 y 7 años. Todos ellos asistían a dos escuelas públicas de dos delegaciones políticas de la Ciudad de México. Los niños fueron incluidos después de obtener el consentimiento informado de los padres, para continuar en estudio. El examen inicial para obtener la información bacteriológica, de la placa dental y la saliva, se describen detalladamente en informes previos^{9,13} y fue la información basal para conocer la predicción de los resultados de estos estudios en la incidencia de caries 30 ± 1 mes después. El incremento neto de caries fue calculado para cada niño.

La información dental fue obtenida por dos observadores, previa estandarización de las observaciones hasta obtener una concordancia confiable ($\kappa = 0.92$, $p < 0.001$) en los datos recabados intra y entre ambos. El examen dental fue hecho con luz natural, fuera del salón de clase, con espejos dentales planos No. 5 y sondas periodontales tipo E, según los criterios y recomendaciones de la OMS. No se emplearon estudios radiológicos.

Los dos investigadores que recabarían la información desarrollaron ejercicios de estandarización de sus observaciones hasta obtener una concordancia confiable ($\kappa = 0.92$, $p < 0.001$) intra e interobservador 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 OMS.¹² No se usaron radiografías.

Muestreo de la placa dental. Con una aguja hipodérmica corta calibre 26 (Becton Dickinson) se raspó por seis ocasiones la foseta central de los primeros molares permanentes inferiores, según la técnica descrita por Loesche,^{4,14} con una presión firme pero ligera en dirección distal a mesial, la aguja se depositó en viales estériles que contenían 2 mL del medio de transporte, con perlas de vidrio. Las muestras fueron transportadas al laboratorio a 4°C y procesadas antes de haber pasado dos horas de su recolección.

Muestreo de saliva. Brevemente: Se le pidió a cada niño que masticara bilateralmente una pastilla de 0.9 g de parafina con cera de Campeche durante 5 min, la saliva producida fue depositada en tubos de ensaye de prolipropileno¹⁵ milimétricos estériles con tapa de rosca. Las muestras se transportaron al laboratorio a 4°C y se procesaron antes de que pasaran dos horas de su recolección.

Se obtuvo el volumen promedio de secreción salival a través de la siguiente fórmula: mL/min.

Medios de cultivo. Se utilizó para la cuantificación del grupo *mutans* Tsy20b,¹⁶ para la cuantificación de *lactobacilos* se empleó agar Rogosa SL¹⁷ y para la velocidad de acidificación salival el medio de Snyder.¹⁸

Inoculación, incubación y conteo. Se homogeneizó cada muestra de saliva y de placa en Vortex (Genie 2 mixer Scientific Industries Inc. Springfield Mass) por 30 segundos; después de ser homogeneizadas las muestras de saliva estimulada, se realizaron diluciones seriadas de 10⁻¹ hasta 10⁻³ en una solución buffer isotónica salina a pH 7. Las muestras de placa se utilizaron sin diluir.

Cada plato de Tsy20b fue inoculado con 50 µL de cada muestra, la cual se dispersó con rodillo de cristal estéril y se incubó en jarras con candela a 37°C por 72 h, y se dejó reposar por 24 h a temperatura ambiente. En los platos con Rogosa SL se utilizó la misma técnica de volumen y dispersión del inóculo. Se incubaron a 37°C por 72 h en una atmósfera aeróbica. Los tubos de ensaye, con el agar de Snyder, se mantuvieron en baño María a 45°C, se inocularon con 200 µL de saliva estimulada sin diluir, se homogeneizaron en Vortex por 30 seg y se incubaron a 37°C por 72 h. Estos tubos se examinaron cada 24 h para registrar cualquier cambio en la coloración del medio, contra un tubo testigo sin inoculación.

Se contaron las colonias de *mutans* y se identificaron por su morfología, los resultados se expresan en los puntos de corte de riesgo utilizados convencionalmente en (< 10⁶, ≥ 10⁶) ufc/mL de saliva o de placa. Las colonias de lactobacilos se identificaron por su morfología y se contaron, expresándose sus resultados en (< 10⁶, ≥ 10⁶) ufc/mL. En el agar de Snyder se registró la velocidad con la que se modifica el color de éste por la pro-

ducción de ácidos; a las 24 h se registra una velocidad de acidificación salival: marcada; a las 48 h moderada; a las 72 h ligera y negativo cuando a las 72 h no se observaba cambio en la coloración del tubo de ensayo contra el tubo testigo. Los resultados se expresan como negativos cuando la velocidad de acidificación salival se registraba como negativa o ligera, y positiva, cuando se registraba una velocidad de acidificación salival moderada o marcada.

En el análisis de los datos se buscó si existía alguna asociación entre los puntos de corte considerados de riesgo para las variables salivales y bacteriológicas al inicio del estudio y la presencia de caries: 0 = sano y 1 = enfermo; en este análisis se usó la prueba ji cuadrada. También se calculó la razón de momios y sus intervalos de confianza al 95%, utilizando el análisis logístico. Para estas estimaciones estadísticas se empleó el paquete estadístico JMP 5.0.1 de la compañía SAS (Cary, C.N. USA).

RESULTADOS

En el estudio basal se encontró que 39 (59%) presentaba conteos bacterianos en la saliva de $\geq 10^6$ de *mutans*; 12% de estos niños tenían las fisuras oclusales de los primeros molares inferiores. Por otra parte en 12 (18%) niños se encontraron cuentas de lactobacilos en saliva de $\geq 10^5$ ufc/mL. En 26 (40%) niños el volumen de producción salival bajó: de 0.5 ± 0.2 mL por minuto; la velocidad de acidificación de la saliva (prueba de Snyder) se observó que 38 (58%) de los niños se encontraron dentro de los índices considerados como de riesgo alto (velocidad de acidificación salival moderada y marcada).

Treinta meses después del examen clínico inicial y del registro de los indicadores salivales y microbiológicos, los niños se clasificaron de acuerdo a su estado de salud bucal (sano o enfermo), relacionando esta información con los puntos de corte de riesgo de los indicadores salivales y bacteriológicos que presentaron al inicio del estudio (*Cuadro 1*). Así, de los indicadores salivales estudiados, el que identificó de manera significativa ($p < 0.016$) el mayor número de niños que enfermaron fue la velocidad de acidificación salival (Snyder).

De los indicadores bacteriológicos usados, el conteo de *S. mutans* en la saliva fue el indicador con mayor número de escolares en riesgo: de los 39 niños con un conteo $\geq 10^6$, 16 (41%) tuvieron caries; sin embargo, no se encontró que este punto de corte identificara a los niños que enfermaron. Los conteos de *mutans* en la placa dental identificaron a 8 niños en riesgo, de los cuales 5 desarrollaron caries, pero el número de casos es insuficiente para identificar los enfermos. En cambio, la prueba predictora más sensible fue la velocidad de acidificación salival en el medio de Zinder, con 51 (78%) niños, cuando identifica a un sujeto con una velocidad de acidificación moderada o marcada.

El indicador con más alta especificidad fue la presencia *mutans* en la placa, observada en 63 (93%) de niños libres de caries: con conteos menores de 10^6 tienen poca probabilidad de desarrollar caries. El número de lactobacilos en la placa mostró ser muy inestable, por lo cual no se reportan las cifras encontradas. Las razones de momios fueron más altas para un indicador salival y para la cuenta de *E. mutans*, cuyos intervalos de confianza están descritos en el cuadro.

Cuadro 1. Valores de prueba diagnóstica de los indicadores salivales y bacteriológicos estudiados.

Indicadores	Punto de corte	n	(p)	Razón de momios	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Salivales								
Volumen de flujo salival estimulado < 1 mL/min	26	(0.08)	0.9 (0.2-3.25)	26		51	22	56
Velocidad de acidificación salival ≥ 2	38	(0.02)	2.1 (1.3-14.0)	78		53	47	82
Bacteriológicos								
<i>S. mutans</i> en saliva $\geq 10^6$	39	(0.20)	1.4 (0.6-6.1)	70		46	41	74
<i>S. mutans</i> en placa $\geq 10^6$	8	(0.09)	1.9 (0.8-19.2)	22		93	63	69
Lactobacilos en saliva $\geq 10^5$	12	(0.19)	1.0 (0.2-3.3)	17		81	33	65
Lactobacilos en placa $\geq 10^5$	2	(0.19)	0.01	-	-	-	-	-

Punto de corte para volumen salival Tenovuo J. Community Dent Oral Epidemiol 1997; 25: 82-6;

CSM por: Klock B, Krasse B: Scand J Dent Res 1979; 87: 129-137;

CLB por: Crossner CG: Community Dent Oral Epidemiol 1981; 9: 182-190.

n = número de individuos, p = significancia (análisis logístico);

VPP = valor predictivo positivo; VPN = valor predictivo negativo.

La tercera parte de los niños: 35% ($n = 23$), desarrollaron caries; de ellos 12 (0.52) desarrollaron entre una y cuatro lesiones en la dentición temporal, y 9 (0.39) entre una y tres lesiones en la dentición permanente y 2 desarrollaron lesiones en ambas denticiones (*Figura 1*).

Con la información obtenida se estimaron los coeficientes de correlación que se describen en el *cuadro 2*. Solamente dos coeficientes fueron positivos para el desarrollo de caries: la infección de *E. mutans* en la placa y la velocidad de acidificación salival en el medio de Snyder; esta última fue estadísticamente significativa.

Se consideró que era pertinente identificar a los niños por el número de indicadores positivos (salivales o bacteriológicos) con la finalidad de ver la interrelación entre los indicadores. De esta manera, 4 niños no tuvieron ningún indicador en el punto de corte considerado de riesgo y éstos se mantuvieron sanos después de 30 meses (*Cuadro 3*). En cuanto a los escolares que presentaron caries a los 30 meses, la combinación de un indicador salival con dos bacteriológicos (80%), fue la

combinación que tuvo el porcentaje más alto; siguiendo, en orden de importancia, dos combinaciones: un indicador salival y uno bacteriológico (44%) y dos indicadores salivales positivos (40%).

DISCUSIÓN

El hecho de que 23 (35%) niños sanos desarrollaron caries después en el tercer año de estudio es un porcentaje mayor al informado en niños suecos 8%,¹⁹ finlandeses 10%,²⁰ chinos 17%,²¹ canadienses 21%²² y belgas 22%.²³

Un estudio sueco,¹⁹ sobre factores de riesgo para caries, señala que en los niños identificados inicialmente sin riesgo, 8% de ellos desarrollan la enfermedad, con un índice grupal de caries de 0.6 cpos y sólo para los que enfermaron este índice fue de 1.5. En nuestros niños los datos son similares; sin embargo, ninguno de los identificados sin riesgo ($n = 4$) desarrolló caries; ya que al finalizar el estudio, el índice por superficie dental para la población estudiada que tenía 9 años de edad, fue de 0.5 para la dentición permanente; el promedio sólo fue de 1.4 superficies para cada indicador en aquellos que enfermaron.

En este estudio el indicador asociado a la presencia de caries en los niños al finalizar el estudio, fue la velocidad de acidificación salival en el medio de Snyder con una sensibilidad de 78%, aunque mostró baja especificidad (53%). El valor predictivo negativo fue de 82%, como está descrito en la literatura;²⁴ de tal manera que su valor diagnóstico consiste en identificar a aquellos que no van a desarrollar caries cuando el resultado de la prueba es negativo (velocidad de acidificación negativa o ligera).

La explicación de por qué la velocidad de acidificación salival es la variable con cierta certeza predictiva,

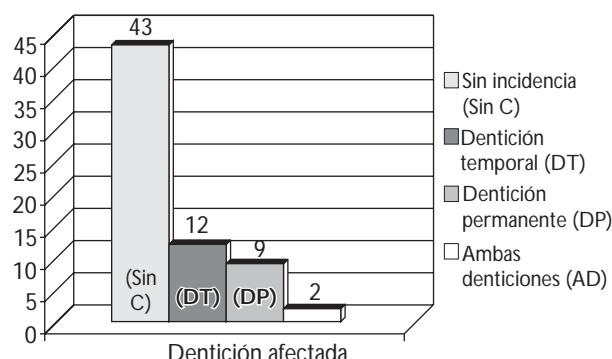


Figura 1. Distribución de los niños de acuerdo a su salud bucal después de tres años de seguimiento.

Cuadro 2. Coeficientes de correlación entre indicadores salivales y bacteriológico, y el desarrollo de caries.

Indicadores	Saliva estimulada	Velocidad de acidificación salival	<i>S. mutans</i> en saliva	<i>S. mutans</i> en placa	Lactobacilos en saliva	Lactobacilos en placa
Velocidad de acidificación salival	-0.133					
<i>S. mutans</i> en saliva	-0.155	0.096				
<i>S. mutans</i> en placa	-0.055	0.225	-0.115			
Lactobacilos en saliva	-0.068	0.166	-0.007	0.066		
Lactobacilos en placa	-0.038	0.152	-0.213	0.205	0.146	
Desarrollo de caries	-0.047	0.306*	-0.156	0.216	-0.015	-0.129

r = Coeficiente de correlación: * = $p < 0.05$

Cuadro 3. Distribución de los niños por número de indicadores registrados.

Comportamiento de los niños/indicadores	Sanos		Enfermaron		Total
	n	%	n	%	
Sin indicador	4	100.0	—	—	4
1 indicador salival	9	69.2	4	30.8	13
1 indicador bacteriológico	7	77.8	2	22.2	9
2 indicadores salivales	3	60.0	2	40.0	5
1 indicador salival + 1 indicador bacteriológico	13	56.5	10	43.5	23
1 indicador salival + 2 indicadores bacteriológicos	1	20.0	4	80.0	5
2 indicadores salivales + 1 indicador bacteriológico	5	83.3	1	16.7	6
2 indicadores salivales + 2 indicadores bacteriológicos	1	100.0	—	—	1
Total	43		23		66

es porque cuando se come algún dulce o se mastica chicle (con cualquier agente saborizante), se estimula el volumen de saliva secretado por las glándulas. Al deglutar el sujeto favorece la dilución del azúcar en la cavidad bucal y el resto de la sacarosa aún presente, se diluye de manera progresiva en la saliva, lo que viene a ser el ciclo de producción salival/ingesta de hidratos de carbono. Conforme pasa el tiempo, la concentración de la sacarosa y saborizantes artificiales disminuye en la saliva y consecuentemente el estímulo glandular, hasta llegar al volumen de secreción salival en reposo: lo que da como resultado un proceso de dilución y eliminación de azúcares a nivel salival más lento.

Este fenómeno está mediado por la presencia de placa dental, pues la sacarosa se difunde con facilidad en la superficie de la placa. En los primeros minutos después de ingerir sacarosa, el gradiente de concentración de los azúcares, que depende del volumen de placa, es más lento: para que el proceso descrito tenga lugar. Sin embargo, este proceso (de "despeje" salival) es decisivo para la producción de ácidos en la placa dental.²⁵

Unos cuantos minutos son necesarios para que la concentración del azúcar en la placa dental sea más alta que en saliva y la concentración de sacarosa sea revertida. Lo que tiene especial importancia, ya que los hidratos de carbono son el sustrato energético de los microorganismos presentes en la placa que al ser degradados producen ácidos orgánicos: con disminución del pH de la saliva y de la biopelícula; esto acontece antes o después de que acumulen los hidratos de carbono en la biopelícula, los poros, en defectos estructurales y lesiones de caries. Todos estos eventos traen como consecuencia la desmineralización del esmalte y si los lapsos de desmineralización ocurren con frecuencia o se prolongan más allá de los períodos de remineralización²⁵ o reposo, a consecuencia de la ingesta de azúcares, dan como resultado el desarrollo de caries.^{26,27} Una inges-

ión alta de hidratos de carbono facilita que el *E. mutans* sintetice más glucanos extracelulares, favoreciendo la adherencia de bacterias a las superficies dentarias: ya que tienen mayor adhesividad.^{28,29}

Hay actualmente un nuevo paradigma en la odontología: la biopelícula,³⁰ lo que hace que cobren sentido las observaciones descritas; la biopelícula de cada área dental tiene características específicas, por lo que aumenta o disminuye la capacidad patogénica de las bacterias implicadas en el desarrollo de la lesión.

Cabe hacer mención que la comunidad bacteriana de boca está integrada por gran número de bacterias que poseen una "fisiología colectiva" que les permite sobrevivir y resolver problemas fisicoquímicos de su microambiente con fluctuaciones constantes de su pH.⁷ La biopelícula tiende a formarse y madurar en ciertas regiones de los dientes, sobre todo en las superficies oclusales, por lo que tienden a permanecer con pocas perturbaciones por lapsos prolongados.

Al masticar la pastilla de parafina que es utilizada para estimular la producción de saliva, se desprende la biopelícula que se encuentra en las superficies oclusales de los dientes; de esta manera la parafina se emplea para inocular el medio de Snyder rico en sacarosa. Es así como este procedimiento refleja la velocidad de acidificación de las bacterias de la saliva, así como la generada por las que se encuentran en la biopelícula. Esta sería la explicación más plausible para entender porqué éste fue el único indicador de riesgo significativo para identificar a los niños con mayor probabilidad de enfermar.

Los conteos de *E. mutans* dependen de la muestra y el medio utilizado para su crecimiento, lo que dificulta establecer comparaciones, pero la cifra 59% de niños con conteos $\geq 10^6$, es parecida a lo informado en niños de Tanzania (53%)³¹ y en otros países²⁹ pero menor a la observada en algunos países europeos;^{29,32} aunque no todos los niños con cuentas bacterianas al-

tas desarrollaron caries. Hay quien menciona que en niños sin conteos viables de *E. mutans* y lactobacilos desarrollan caries, sugiriendo que otras bacterias pueden estar implicadas al principio de la desmineralización del esmalte.²⁶

La adhesividad de las bacterias es otro factor que interviene en la susceptibilidad o resistencia a la caries³³ lo que hace pensar que los niños con más riesgo desarrollen la enfermedad, pero el incremento neto de caries observado en los niños no apoya esta hipótesis, coincidiendo con lo reportado por otros.³⁴

En cuanto al conteo de ufc/mL de *S. mutans* en los niños se encontraban dentro de los parámetros de bajo riesgo, siendo las diferencias entre mantenerse sano o enfermar no significativas estadísticamente, información que sugiere que en los niños libres de caries son otras las variables que determinan que desarrollen la enfermedad, pudiéndose considerar entre éstas: la alimentación y la resistencia del esmalte a la disolución ácida, las cuales pudieron haber tenido un peso más alto en el proceso estudiado, probablemente ingirieron con frecuencia hidratos de carbono (como la generalidad de los niños) ocasionando períodos de una mayor desmineralización del esmalte que se refleja en el número de niños enfermos.

Finalmente, el desarrollo temprano de una lesión depende en consecuencia del desequilibrio en el fenómeno fisiológico en el proceso de desmineralización y remineralización del esmalte, que debió ser precedido por alguno de los indicadores de riesgo considerados en el presente estudio, pero el peso de estos indicadores es poco preciso para identificar en los niños sin caries, por lo que es necesario idear un modelo que incorpore variables de otra índole, como dietéticos, educación e higiene personal.

Referencias

- Keyes PH. The infections and transmissible nature of experimental dental caries. *Archs Oral Biol* 1960; 1: 304-310.
- Johnson NW. *Risk markers for oral diseases*. Dental caries. Markers of high and low risk groups and individuals. U.K.: Cambridge University Press; 1991.
- Van Houte J. Microbiological predictors of caries risk. *Adv Dent Res* 1993; 7(2): 87-96.
- Loesche WJ, Straffon LH. Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. *Infect Immun* 1979; 26(2): 498-507.
- Boyar RM, Bowden GH. The microflora associated with the progression of incipient lesions of children living in a water fluoridated area. *Caries Res* 1985; 19(4): 298-306.
- Vanderas AP. Bacteriologic and non-bacteriologic criteria for identifying individuals at high risk of developing dental caries: a review. *J Pub Health Dent* 1986; 42: 106-113.
- Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 2004; 83(Spec Issue) C: C35-38.
- Batchelor P, Sheiham A. The limitations of a high-risk approach for the prevention of dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2002; 30: 302-312.
- Sánchez-Pérez L, Acosta GE. Caries risk assessment from dental plaque and salivary *Streptococcus mutans* counts on two culture media. *Arch Oral Biol* 2001; 46: 49-55.
- Sánchez-Pérez L, Sáenz ML, Tomasis GJ, Mancera VN. Caracterización salival y microbiológica de un grupo de niños libres de caries. *Rev Cienc Clin* 2003; 4(1): 7-14.
- Powell LV. Caries prediction: a review of the literature. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998; 26: 361-371.
- World Health Organization. *Oral Health Surveys. Basic Methods*. 40 ed., Geneva; 1997.
- Sánchez-Pérez L, Acosta GE, Méndez RI. A cluster analysis model for caries risk assessment. *Arch Oral Biol* 2004; 49: 719-725.
- Loesche WJ, Hockett RN, Syed SA. The predominant cultivable flora of tooth surface plaque removed from institutionalized subjects. *Archs Oral Biol* 1972; 17: 1311-1326.
- Larmas M. Saliva and dental caries: diagnostic tests for normal dental practice. *Int Dent J* 1992; 42: 199-208.
- Schaeken MJM, van der Hoeven JS, Franken HCM. Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on five isolation media, including a new simple selective medium. *J Dental Res* 1986; 65: 906-908.
- Rogosa M, Mitchell JA, Wiseman R. A selective medium for the isolation and enumeration of oral lactobacilli. *J Dent Res* 1951; 30: 682-689.
- Snyder ML. Laboratory methods in the clinical evaluation of caries activity. *J Amer Dent Assoc* 1951; 42: 400-413.
- Wendt LK, Carlsson E, Hallosten AL, Birkhed O. Early dental caries risk assessment and prevention in pre-school children: evaluation of a new strategy for dental care in a field study. *Acta Odontol Scand* 2001; 59: 261-266.
- Raitio M, Pienihakkinen K, Scheinin A. Assessment of single risk indicators in relation to caries increment in adolescents. *Acta Odontol Scand* 1996; 54: 113-117.
- Li Y, Wang W. Predicting caries in permanent teeth from caries in primary teeth: a eight year cohort study. *J Dent Res* 2002; 81(8): 561-566.
- Demers M, Brodeur JM, Mouton C, Simard PL, Trahan L, Veilleux G. A multivariate model to predict caries increment in Montreal children aged 5 years. *Community Dent Health* 1992; 9: 273-281.
- Vanobbergen J, Martens L, Lesaifre E, Bogaerts K, Declerck D. The value of baseline caries risk assessment model in the primary dentition for the prediction of caries incidence in the permanent dentition. *Caries Res* 2001; 35: 442-450.
- Birkhed D, Edwardsson S, Andersson H. Comparison among a dip slide test (Dentocult) plate count, and Snyder test for estimating number of lactobacilli in human saliva. *J Dent Res* 1981; 60: 1832-1841.
- ten Cate JM, Larsen MJ, Pearce EIF, Fejerskov O. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. In: Fejerskov O, Kidd E. *Dental caries. The disease and its clinical management*. U. K. Blackwell Munksgaard Ed; 2003.
- Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in Human dental Decay. *Microbiol Review* 1986; 50(4): 353-380.
- Loesche WJ. *Cárie Dental. Uma infecção tratável*. Brasil; Ed. Cultura Médica; 1993.

28. van Houte J. Bacterial specificity in the aetiology of dental caries. *Int Dent J* 1980; 30(4): 305-26. Review.
29. van Palenstein HWH, Matee MIN, van der Hoeven JS, Milkx FHM. Cariogenicity depends more on diet than the prevailing mutans streptococcal species. *J Dent Res* 1996; 75(1): 535-543.
30. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res* 2004; 38(3): 182-91. Review.
31. Matee MI, Mikx FHM, Frencken JEFN, Truin GJ, Ruiken HMHM. Selection of 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.
32. Gabris K, Nagy G, Madléna M, Dénes ZSs, Marton S, Keszthelyi G. Associations between microbiological and salivary caries activity test and caries experience in Hungarian adolescents. *Caries Res* 1999; 33: 191-195.
33. Stenudd C, Nordlund A, Ryberg M, Johansson I, Kallestal C, Stromberg N. The association of bacterial adhesion with dental caries. *J Dent Res* 2001; 80: 2005-2010.
34. Hausen H, Karkkainen S, Seppa L. Application of the high-risk strategy to control dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2000; 28(1): 26-34.

Correspondencia:

D. en O. Leonor Sánchez-Pérez
UAM. Xochimilco, Área de Investigación en
Ciencias Clínicas.
Calzada del Hueso Núm. 1100, Colonia Villa
Quietud, 04960, México, D.F.
Tel./Fax. 5483-7242 y 54837218
E-mail: tlperez@correo.xoc.uam.mx

