

Artículo Original

Cuantificación de *Streptococcus mutans*, pH salival y dieta cariogénica en un grupo de escolares

Tah-Rosado MJ, Hernández-Solís SE, Rueda-Gordillo F, Lama-González EM, Rodríguez-Fernández MSC
Departamento de Microbiología Oral Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán

RESUMEN

En la cavidad bucal pueden estar presentes microorganismos cariogénicos como *S. mutans*, el cual, en presencia de una dieta rica en azúcares produce grandes cantidades de ácidos como producto de su metabolismo, pudiendo ocasionar una desmineralización y destrucción de los tejidos duros del diente. El objetivo de este estudio fue cuantificar la presencia de *S. mutans*, pH salival y dieta cariogénica en un grupo de escolares sin caries de entre 6 y 12 años de edad. Se determinó la ingesta de alimentos de riesgo cariogénico y se clasificaron de acuerdo con su grado de cariogenicidad. Se tomaron muestras de saliva para determinar el pH salival con una tira reactiva y se realizaron cultivos en agar Mitis Salivarius para cuantificar a *S. mutans*. De acuerdo su dieta cariogénica, el 97.5 % de los escolares presentó un grado de riesgo cariogénico de moderado a alto. El grado de infección por *S. mutans* fue de moderado a alto en 92.7% de los escolares y el pH salival fue de neutro a ligeramente alcalino. Se recomienda la reducción de la ingesta de carbohidratos fermentables y un control de la placa para mantener el estado de salud de la cavidad oral.

Palabras clave: caries, niños, dieta, *S. mutans*.

ABSTRACT

Cariogenic microorganisms such as *S. mutans* can be present in the oral cavity. In the presence of a diet rich in sugars, *S. mutans* produces large amounts of acids as a product of its metabolism, which can cause demineralization and destruction of the hard tissues of the tooth. The aim of this study was to quantify the presence of *S. mutans*, salivary pH, and cariogenic diet in a group of school children without caries between 6 and 12 years of age. The intake of cariogenic risk foods was determined and classified according to their degree of cariogenicity. Saliva samples were taken to determine salivary pH with a reagent strip and cultures were performed on Mitis Salivarius agar to quantify *S. mutans*. According to their cariogenic diet, 97.5 % of the school children presented a moderate to high cariogenic risk. The degree of *S. mutans* infection was moderate to high in 92.7% of the school children and the salivary pH was neutral to slightly alkaline. Reduction of fermentable carbohydrate intake and plaque control is recommended to maintain the health status of the oral cavity

Keywords: caries, children, diet, *S. mutans*

Solicitud de sobretiros: Dra. Sandra Elena Hernández Solís

Correo electrónico: hsolis@correo.uady.mx

Correspondencia: Calle 61 A No. 492A x Av. Itz'áes, Col. Centro, Mérida, Yucatán, México. CP. 97000.

Recibido: Julio 2021 / Aceptado: Octubre 2021

Artículo disponible en <http://www.odontologia.uady.mx/revistas/rol/pdf/V13N2p25.pdf>

INTRODUCCIÓN

La caries dental es un proceso patológico que se produce por la interacción entre la estructura de los dientes, la biopelícula microbiana formada en la superficie del diente y la presencia de azúcares en el medio bucal (1). Estos azúcares cuando son metabolizados por las bacterias de la biopelícula producen ácidos que con el tiempo destruyen el diente. A nivel mundial las enfermedades bucodentales afectan a cerca de 3500 millones de personas y se estima que, 2300 millones de personas padecen caries en dientes permanentes y que más de 530 millones de niños sufren de caries en los dientes deciduos (2).

La dieta desempeña un papel fundamental en el desarrollo de la caries dental, especialmente en personas de riesgo de desarrollarla. Las características del alimento, contenido y concentración de azúcares, asociación de sacarosa a otros carbohidratos fermentables (lactosa), cereales y almidones, consistencia, grado de adhesividad, tamaño de las partículas, así como las preferencias alimentarias, frecuencia, y momentos de consumo de alimentos ácidos y dulces, son factores que involucrados en su desarrollo (3). En niños de entre 2 y 13 años con una frecuencia de consumo de azúcares mayor de 3 veces al día, se ha reportado una prevalencia de caries del 90% (4).

La producción y secreción salival constituyen uno de los factores más importantes que influyen en la homeostasis de la cavidad bucal, protegiendo a los dientes y mucosa contra la influencia de muchos factores perjudiciales (5). La capacidad amortiguadora de la saliva contrarresta los cambios de pH salival protegiendo los tejidos bucales contra los ácidos provenientes de la comida o placa dental. La función amortiguadora es convertir una solución más débilmente ionizada; es decir, liberando iones H^+ u OH^- . El buffer ácido carbónico o bicarbonato ejerce su acción cuando aumenta el flujo salival estimulado y el buffer fosfato ejerce su acción cuando el flujo salival es bajo. Cuando la saliva se encuentra saturada de fosfato con respecto a la hidroxiapatita (HA), el pH disminuye por debajo del pH crítico (5.5) y la HA comienza a disolverse, a pesar de esto, los iones fosfato y calcio circundantes en la cavidad bucal restablecen el equilibrio permitiendo la remineralización y

evitando la desmineralización del órgano dentario (6). Además de su función amortiguadora del pH salival y reservorio de iones de calcio, fósforo y fluoruro para la remineralización, la saliva posee la capacidad de controlar la microflora oral mediante mediadores inmunológicos (IgA), enzimáticos, pépticos y químicos (7).

Streptococcus mutans (*S. mutans*), es el principal agente etiológico de la caries dental. Su potencial cariogénico reside principalmente en tres atributos: su capacidad para sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares de glucano a partir de sacarosa permitiéndole colonizar la superficie de los dientes y en el desarrollo de la matriz polimérica extracelular *in situ*, su capacidad de transportar y metabolizar un amplio rango de carbohidratos en ácidos orgánicos (acidogenicidad), y su capacidad de sobrevivir bajo condiciones de estrés ambiental, particularmente pH ácido (8)

La caries dental es una de las enfermedades con mayor prevalencia en la población infantil, por lo que este estudio tiene como objetivo, analizar los factores de riesgo asociados a la caries dental mediante el conteo de colonias bacteriológicas de *S. mutans*, medición del pH salival y dieta cariogénica en escolares, para poder contribuir en un futuro con el establecimiento de medidas adecuadas para la prevención y a su vez permitir la conservación de los órganos dentales íntegros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, descriptivo, transversal y prospectivo. La población de estudio fueron escolares de 6 a 12 años de edad, que acudieron a atención odontológica a la Facultad de Odontología de la UADY.

Los criterios de inclusión fueron: escolares sin caries dental con autorización para participar en el estudio, que no hubieran ingerido alimentos, ni lavado los dientes o enjuagado la boca durante al menos 2 horas antes de la toma de muestra y que fueran cooperadores en el manejo de conducta. En cuanto a los criterios de exclusión, se consideró a los escolares con enfermedades sistémicas y/o algún síndrome, sometidos a terapia antimicrobiana 6 meses previos al estudio y con restauraciones por caries. A los cuidadores de los escolares que cumplieron con los criterios de

inclusión, se les informó acerca de su participación y se les solicitó su aprobación para participar en el estudio, mediante la firma de la carta de consentimiento informado.

Ingesta de alimentos de riesgo cariogénico

Para determinar el riesgo cariogénico con base en la dieta, a los cuidadores se les realizó una encuesta de consumo de alimentos cariogénicos en donde se evaluó la frecuencia del consumo y ocasión en la que el alimento es ingerido (9). La encuesta clasificó los alimentos de acuerdo con su grado de cariogenicidad en 5 grupos y les otorgó la siguiente puntuación: Bebidas azucaradas como jugos de sobre, jugos de fruta, té, leche agregándole cucharadas de azúcar, un punto. A las masas no azucaradas como pan blanco o galletas de soda, dos puntos. Caramelos como chicles, caramelos, helados, mermeladas, chocolates, tres puntos. Cuatro puntos fueron otorgados a las masas azucaradas como pasteles, dulces, galletas, donas. Finalmente, cinco puntos fueron otorgados al grupo de los azúcares, donde se encuentran los jugos en polvo, miel, frutas en almíbar y cereales azucarados. A cada uno de los rubros que contemplaron la encuesta, se les asignó una puntuación y el valor de la sumatoria de éstos, fue considerado para determinar el riesgo cariogénico de la dieta de con base en la siguiente escala: 10-33: bajo riesgo cariogénico, 34-79: moderado riesgo cariogénico y 80-144: alto riesgo cariogénico.

Toma de muestra salival

A los escolares que cumplieron con los criterios de inclusión se les tomó una muestra de saliva, pidiéndoles que vertieran su saliva en un tubo de ensaye estéril, una vez obtenida la muestra, los tubos se cerraron y se transportaron inmediatamente al Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán para su análisis.

Medición de pH salival

Para determinar el pH de la saliva, se utilizó el método colorimétrico, con una tira indicadora de pH de la marca Crissa que contiene una escala de valores que van de 1 a 14 (10). La muestra se agitó por 30 segundos y luego se colocó en la tira indicadora de pH y se esperó de 2 a 3 minutos para hacer la lectura colorimétrica de acuerdo con el patrón de pH del fabricante.

Identificación de *S. mutans* en saliva

Con las muestras de saliva homogeneizadas, se prepararon diluciones 1:1000, se tomaron 50 µl de la dilución y se sembraron con ayuda del asa digralsky en el medio Agar Mitis Salivarius (AMS) adicionado con 20% de sacarosa. Las placas inoculadas con las muestras de saliva se incubaron en anaerobiosis a 37°C por 48 horas. Al cabo de este tiempo, las placas se incubaron otras 24 horas a 37°C en aerobiosis. Una vez obtenidos los cultivos en las placas de AMS, aquellas colonias de consistencia dura, superficie rugosa, granuladas, elevadas y convexas, opacas de color azul oscuro, con márgenes irregulares y mucoides; fueron consideradas como presuntivas de *S. mutans* (11). A estas colonias se les realizó la tinción de Gram para observar su morfología y agrupamiento característicos.

Pruebas bioquímicas para identificación de *S. mutans*.

Para la elaboración de las pruebas bioquímicas se tomó una asada de la colonia *S. mutans* y se inoculó en el caldo manitol-sorbitol y arginina, y se incubó a 37°C en anaerobiosis durante 48 horas y otras 24 horas en aerobiosis. La fermentación de los carbohidratos se interpretó como positiva: ácido, color amarillo y como negativa: alcalino, color rojizo rosado (12).

Cuantificación de *S. mutans*

Una vez identificadas las colonias de *S. mutans* en el medio AMS, se contaron y el número el total de éstas se multiplicó por el factor de dilución de la saliva, para obtener el total de UFC/mL. La interpretación de los resultados se realizó a partir del método Linoscreen®; de esta manera se agruparon según el recuento bacteriano en riesgo bajo: 10,000 a 50,000 UFC/mL, moderado: 100,000 a 250,000 UFC/mL, y alto 500,000 a 1000,000 UFC/mL (13).

RESULTADOS

Se examinaron 41 escolares sin caries de edades comprendidas entre los 6 y 12 años, el promedio de edad fue de 8.2 años. En cuanto al sexo de los escolares estudiados, 18 (43.8%) pertenecieron al femenino y 23 (56.1%) al masculino. La distribución de los escolares de acuerdo su sexo y edad, se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Distribución de los escolares estudiados de acuerdo con el sexo y edad.

Edad	Femenino No. (%)	Masculino No. (%)	Total No. (%)
6	6 (14.6)	4 (9.8)	10 (24.4)
7	1 (2.4)	5 (12.2)	6 (14.6)
8	1 (2.4)	2 (5.0)	3 (7.4)
9	4 (9.8)	6 (14.6)	10 (24.4)
10	5 (12.2)	5 (12.2)	10 (24.4)
11	1 (2.4)	0 (0)	1 (2.4)
12	0 (0.0)	1 (2.4)	1 (2.4)
Total	18 (43.8)	23 (56.2)	41 (100.0)

Los valores del pH salival oscilaron entre 5 y 9. De las muestras de saliva analizadas, 27 (65.8%) tuvieron un valor de pH de 7 y 2 (4.9%) un valor de 5 (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución de pH salival en los escolares estudiados

pH salival	No. (%)
5	2 (5.0)
6	5 (12.1)
7	27 (65.8)
8	5 (12.1)
9	2 (5.0)
Total	41 (100.0)

Con respecto al grado de riesgo cariogénico por consumo de alimentos, 39 (95.1%) presentó riesgo moderado y 1 (2.4%), riesgo alto (Tabla 3). También se observó que el 65.8% consume los alimentos entre las comidas.

Tabla 3. Grado de riesgo cariogénico por ingesta de alimentos en escolares estudiados.

Grado de riesgo	No. (%)
Baja	1 (2.4)
Moderada	39 (95.2)
Alta	1 (2.4)
Total	41 (100.0)

Con respecto al recuento de *S. mutans* en saliva, se observó que el 100% de los escolares analizados presentaban estos microorganismos en su cavidad oral, con recuentos que variaron de entre 10,000 a 1,000,000 UFC/ml. Más de la mitad de los escolares presentó una cuantificación de alto riesgo (Tabla 4).

Tabla 4. Cuantificación de *S. mutans* en la saliva de los escolares estudiados

Cuantificación de <i>S. mutans</i> .	No. (%)
Bajo: 10,000 a 50,000 UFC/ml	3 (7.3)
Moderado: 100,000 a 250,000 UFC/ml	15 (36.6)
Alto: 500,000 a 1000,000 UFC/ml	23 (56.1)
Total	41 (100.0)

DISCUSIÓN

Uno de los problemas de salud pública a nivel mundial debido a su alta prevalencia e incidencia, y de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud es la caries dental. La caries dental es de naturaleza multifactorial y en su etiología se encuentran involucrados tanto componentes extrínsecos como intrínsecos, que, al interactuar entre sí, desencadenan una serie de eventos, siendo casi imposible determinar que factor es más determinante en cuanto a causalidad (11).

La mayoría de los autores señalan que, entre los factores de riesgo cariogénico, se encuentra la ingestión de azúcares en la dieta. Se ha demostrado que los alimentos que contienen sacarosa son altamente cariogénicos sobre todo si se consumen entre comidas. En este estudio se encontró que el 97.5% de los escolares estudiados presentó un grado de riesgo cariogénico por consumo de alimentos entre moderado y alto, cifra mayor a lo reportado en los estudios de García-Vega que reportó una dieta de riesgo cariogénico en el 85.2% de los escolares peruanos (4), por Quiñones quien reportó una prevalencia de dieta cariogénica del 65% (14) y Yabao que reportó en el 89% de los escolares filipinos de 6 a 12 años (15).

En este estudio se identificó que el 65.8% de los escolares consume alimentos cariogénicos entre comidas, cifra similar a lo reportado por Díaz *et al.*, quienes encontraron que el 67.5% de los escolares consumen una dieta cariogénica a cualquier hora (16). El consumir alimentos dulces después de una comida copiosa, permite que el tiempo de aclaramiento oral sea menor; su consumo frecuente no permitirá que el pH salival recupere su punto neutro, ya que se normaliza durante la media hora posterior a la última ingesta, razón por la cual, si los alimentos se ingieren de manera continua, el pH se mantiene ácido y contribuye al avance de la caries (4).

Diversos estudios han encontrado una relación significativa entre el consumo de alimentos cariogénicos y caries dental (4,17,18). Algunos investigadores han planteado que la presencia de una dieta cariogénica en el niño conlleva al deterioro paulatino de su estado de salud bucal. Quiñones (14) encontró asociación entre una dieta no cariogénica con una salud bucal adecuada y una dieta cariogénica con una salud bucal inadecuada, lo que habla a favor de que el tipo de dieta es un factor de riesgo en el estado de salud bucal. En este estudio, aunque los escolares no presentaron caries, se encuentran en alto riesgo de desarrollarla ya que la mayoría consume alimentos de elevada cariogenicidad y un gran porcentaje los consume entre comidas. Es importante llevar un control de hábitos dietéticos, evitando el consumo exagerado de golosinas e implementando un cepillado dental en el horario del refrigerio, así como el control de la venta de alimentos no recomendables en los colegios para disminuir el riesgo de caries en los niños.

Una alimentación rica en carbohidratos contribuye a la acidificación del pH bucal. Durante la ingesta de azúcares el pH de la saliva disminuye llevándolo a niveles ácidos que dañan el esmalte dental y el tiempo que tarda la saliva en regresar a sus valores iniciales de pH es de 35 a 50 minutos tiempo durante el cual el esmalte se encuentra en riesgo de una desmineralización (19). Se sabe que el pH de la saliva influye en la regulación de la flora oral y que la capacidad amortiguadora tiene como función mantener el pH estable en la cavidad bucal. Se ha encontrado que la capacidad amortiguadora de la saliva es generalmente mayor en los individuos sin caries, por lo que se ha llegado a pensar que la capacidad amortiguadora es de suma importancia (20,21). Apoyando lo anterior, se ha encontrado una relación entre la caries dental y la capacidad amortiguadora de la saliva, al evidenciar que la capacidad amortiguadora en individuos resistentes a la caries es mayor que en los individuos susceptibles, y que la misma no desciende mucho durante los 10 minutos de la masticación, a pesar de que exista poco flujo salival (22). Los resultados de este estudio muestran que el 82.9% de los escolares estudiados presentó un pH salival neutro o ligeramente alcalino y únicamente el 17.1% tuvo un pH menor de 6.

La presencia de *Streptococcus mutans* se asocia con la formación de caries dental, de tal manera que en la actualidad dicho microorganismo se considera como uno de los principales factores causales de la enfermedad en el humano. Los altos grados de infección por *S. mutans* elevan el riesgo de padecer caries, se ha notado una correspondencia entre el grado de infección y la actividad de caries, reportándose que los niños con un alto grado de infección muestran significativamente una mayor prevalencia de afectación e incidencia de caries al año y a los 2 años (23). La directa relación que existe entre la presencia de microorganismos y la prevalencia de caries, la naturaleza infecciosa de esta patología y su reconocimiento, aislamiento e identificación de características específicas de los gérmenes, han permitido determinar el nivel de riesgo frente a la posibilidad de desarrollar caries, como también la severidad o grado de avance que esta puede adquirir (24). En este estudio, se identificó y se hizo un recuento de *S. mutans* en saliva observándose que el 36.6% y el 56.1% de los escolares estudiados presentaron niveles de infección por *S. mutans* de moderado y alto riesgo, respectivamente. Tomando en cuenta que *S. mutans* es capaz de producir grandes cantidades de ácidos en presencia de una dieta cariogénica, lo cual se traduciría en un pH ácido que favorecería la desmineralización del esmalte dental, entonces podría considerarse que los escolares incluidos en este estudio se encuentran en un riesgo alto de desarrollar caries dental.

Un estudio descrito por Molina en México (25), reportó la relación entre el consumo de productos azucarados y el nivel de infección por *S. mutans*, observando que en los niños de 6 y 11 años que tenían un consumo de azúcares escaso y regular, presentaron un nivel de infección bajo de *S. mutans*, mientras que los que tenían un consumo elevado presentaron un nivel alto de infección por *S. mutans*. Otro estudio realizado Lomelí (21), encontró una relación entre la presencia de caries y un incremento en el número de colonias de *S. mutans* y una capacidad amortiguadora baja.

La implementación de programas preventivos como una correcta técnica de cepillado, reducción y control del consumo de alimentos con gran contenido en azúcares, uso de fluoruros reducen el riesgo cariogénico asociado a una cuantificación alta

de *S. mutans* al que se encuentran expuestos los escolares (26).

Los resultados de este estudio resultan útiles ya que, si bien los escolares incluidos en este estudio no presentaron caries, se observa que se encuentran en riesgo de desarrollarla, debido al tipo de dieta que consumen y al grado de infección por *S. mutans*. Se recomienda el control del consumo de alimentos, disminuyendo el consumo frecuente de alimentos con alto contenido de azúcar como las golosinas sobre todo entre comidas. Es importante llevar un control de la de forma periódica la placa dentobacteriana para mantener niveles bajos de *S. mutans* y realizar visitas periódicas al consultorio dental.

CONCLUSIONES

Se observó un grado de riesgo cariogénico por consumo de alimentos entre moderado y alto en el 97.6% de los escolares. El pH salival fue neutro en el 65.8% y ácido en el 4.9% de los escolares. ligeramente alcalino. La cuantificación *S. mutans* fue alta en el 56.1% de los escolares indicando un alto riesgo de desarrollar caries y moderada en el 36.6%. Se recomienda la reducción de la frecuencia de ingestión de carbohidratos fermentables y un control de placa para mantener el estado de salud de la cavidad oral.

REFERENCIAS

- Pitts N, Zero D, Marsh P, Ekstrand K, Weintraub J, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. Nat Rev Dis Primers. 2017;3:17030.
- GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet. 2018;392(10159):1789–858.
- Nasco N, Gispert E, Roche A, Alfaro M, Pupo R. Factores de riesgo en lesiones incipientes de caries dental en niños. Rev Cubana Estomatol 2013;50(2):142-52.
- García-Vega L. Relación entre consumo de alimentos cariogénicos e higiene bucal con caries dental en escolares. Kiru 2012;9(1):34-8.
- Rojas T, Romero M, Navas R, Álvarez CJ, Morón A. Flujo salival, pH y capacidad amortiguadora en niños y adolescentes cardiopatas: factor de riesgo para caries dental y enfermedad periodontal. Estudio preliminar. Ciencia Odontológica 2008;5(1):17-26.
- Hernández AA, Aranzazú GC. Características y propiedades fisicoquímicas de la saliva: una revisión. Ustasalud. 2012;11(2):101-11.
- Walsh L. Aspectos clínicos de biología de salud para el clínico dental. J Minim Interv Dent. 2008;1(1):5-23.
- Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The Biology of *Streptococcus mutans*. Microbiol Spectr. 2019;7(1): 10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018.
- Vaisman B, Martínez MG. Asesoramiento dietético para el control de caries en niños. Rev Latinoam Ortod Odontoped. 2004;art-10.
- Flores P. Nivel de pH salival en niños de 6 meses a 18 meses de edad con ingesta de leche evaporada modificada y leche materna. Kiru. 2010;7(1):16-24.
- Ojeda-Garcés JC, Oviedo-García E, Salas LA. *Streptococcus mutans* and caries dental. CES Odontol. 2013;26(1):44-56.
- MacFaddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3ra edición. Estados Unidos. Editorial Médica Panamericana. 2003.
- Salazar L, Vázquez C, Almuna A, Oporto G, Santana R, Herrera C, et al. Detección molecular de *Streptococcus* cariogénicos en saliva. Int J Morphol 2008;26(4):951-8.
- Quiñones ME, Ferro PP, Martínez H, Rodríguez Y, Seguí A. Relación del estado de salud bucal con algunos factores socioeconómicos en niños de 2-5 años. Rev Cubana Estomatol. 2008;45(3-4): S0034-75072008000300004.
- Yabao RN, Duante CA, Velandria FV, Lucas M, Kassu A, Nakamuri M, et al. Prevalence of dental caries and sugar consumption among 6-12-y-old schoolchildren in La Trinidad, Benguet, Philippines. Eur J Clin Nutr. 2005;59(12):1429-38.
- Díaz N, Fajardo Z, Páez Ma, Solano L, Pérez M. Frecuencia de consumo de alimentos cariogénicos y prevalencia de caries dental en escolares venezolanos de estrato socioeconómico bajo. Acta Odontol Venez. 2013;51(2):art-5.
- Duque J, Rodríguez A, Coutin MG, Riveron F. Factores de riesgo asociados con la enfermedad caries dental en niños. Rev Cubana Estomatol 2003;40(2):S0034-75072003000200001.
- Molina NM, Castañeda RE, Gaona E, Mendoza P, González T. Consumo de productos azucarados y caries dental en escolares. Rev Mex Pediatr. 2004;71(1):14-6.
- Cosío ADJ, Ortega CA, Vaillard JE. Determinación del pH salival antes, durante y después del consumo de caramelos en niños y niñas de 3, 4 y 5 años de edad. Oral. 2010;11(35):642-5.
- Zaragoza MT, Martínez LG, Ángel L, Cabrera EF, Hernández HM, Herrera GP, et al. El consumo de refresco de cola como factor de riesgo para desarrollar caries dental a partir de la alteración del pH y la capacidad buffer salival. JADA México. 2012-2013;4(12-2):48-51.
- García LR, Calderón A, Zaragoza MT, Cruz LV, Moreno A. Asociación entre microorganismos y la capacidad amortiguadora de la saliva con la caries dental de escolares. Rev Odont Mex. 2008;12(4):173-6.
- Hernández TD, Damián JG, Constandse DA. Determinación del riesgo de caries mediante conteo de UFC de *Streptococcus mutans* y lactobacilos y capacidad buffer de saliva en un grupo de niños. Colección de reportes técnicos de investigación. Ed. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, México. 2013.
- Gispert AE, Rivero LA, Cantillo EE. Relación entre el grado de infección por *Streptococcus mutans* y la posterior actividad cariogénica. Rev Cubana Estomatol. 2000;37(3):157-61.
- Pérez QJ, Duque de Estada J, Gato-Fuentes I. Asociación de *Streptococcus mutans* y lactobacilos con la caries dental en niños. Rev Cubana Estomatol. 2007;44(4): S0034-75072007000400002.
- Molina FN, Castañeda CR, Reyes RR. *Streptococcus mutans* en escolares de 6 y 11 años de edad. Rev Enfer Infec Pediatr. 2007;XX(79):54-8.
- Cisneros DG, Hernández BY. La educación para la salud en edades tempranas de la vida. MEDISAN. 2011;15(10):1445-58.