

Correlación de las Pruebas de Susceptibilidad a la Caries

RECUENTOS DE LACTOBACILOS Y CANDIDA EN NIÑOS ESCOLARES DE 9 A 11 AÑOS EN CALDAS, ANTIOQUIA, COLOMBIA (@)

LUZ INES SIERRA*, MARIA DEL SOCORRO ESTRADA**(*) , MARIA ELENA GALEANO**(*) , DIANA MARIA GAVIRIA**(*) , PATRICIA ALVAREZ**(*) , BEATRIZ RESTREPO*** , CARLOS MARIO PARRA**** , LUZ ELENA LOPERA***

Sierra, Luz Inés y otros "Correlación de las pruebas de susceptibilidad a la caries". *Recuentos de lactobacilos y candida(@)*, Rev. Fac. Odont. Univ. Ant. 6 (2): 15-20, 1995.

Sierra, Luz Inés et al "Caries risk study; correlation of the test: salivary counts of Lactobacilli and Candida in School children 9-11 years old in Caldas, Antioquia, Colombia", Rev. Fac. Odont. Univ. Ant., 6 (2): 15-20, 1995.

RESUMEN

En el presente trabajo estudiamos en 195 niños escolares de 9 a 11 años, del municipio de Caldas, Antioquia, la correlación de los índices clínicos de caries y el recuento de Lactobacilos y Candida. En estudios paralelos en esta misma población se consideraron las correlaciones con la capacidad amortiguadora (CAS), el recuento salivar de Estreptococos del grupo "mutans", y la ingesta de sacarosa (Sierra LI, Gaviria DM, y col, 1995; Sierra LI, Uscátegui R, y col., 1995). Esta población, que aunque no tiene flúor en el agua, ha tenido programas preventivos y de topicaciones, tiene un índice alto de caries (CO,s 13.6), una higiene oral regular (Índice de placa 1.35), tiene Lactobacilos en 2 terceras partes de la población en recuentos mayores de 10^5 UFC/ml de saliva. Nuestro estudio no mostró correlación del CO,s con Lactobacilos y tampoco con Candida que sólo fue cultivada en un 14.2% de la muestra. Correlacionando los resultados con estudios paralelos, el consumo de sacarosa mostró en el grupo de mayor caries una leve correlación con recuento de Lactobacilos. Ni estos últimos, ni los recuentos de Candida, se correlacionaron con Estreptococcus del grupo "mutans", o con la Capacidad amortiguadora salivar.

ABSTRACT

In the present work we studied, the correlation between sucrose intake and caries (DFs), in 195 school children between the age of 9 to 11 years old from Caldas, Antioquia, Colombia. In the same sample, parallel works were conducted to study salivary buffer capacity, "mutans" Streptococci, and sucrose intake. This population didn't have fluoride in the water supply, but have preventive annual program of topical fluoride, a regular oral hygiene (Plaque index 1.35) and a high caries scores (DFs = 13.6). The salivary Lactobacilli counts were positive ($> 10^5$ CFU/ml) in 2 thirds of the sample. Our results didn't show correlation between de DFs score and Lactobacilli salivary counts and either between Candida salivary counts. Only 14.2% of the children had Candida in saliva. The correlation between these results and the parallel studies had shown low correlation in the high DFs score group, between sucrose intake and the salivary Lactobacillus counts. None of these show correlations with Streptococcus of "mutans" group counts or buffer capacity.

Palabras claves: Caries, Lactobacilos, Candida.

Key words: Caries, Lactobacilli, Candida.

* Profesor, Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia

** (*) Requisito parcial para optar el título de Especialista Odontología integral del niño, Universidad de Antioquia.

*** Bacterióloga, Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia

**** Profesor, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia

(@) Artículo derivado de una investigación financiada por la Universidad de Antioquia a través del Centro de Investigaciones de la Facultad de Odontología.

INTRODUCCION

La caries dental, enfermedad infecciosa que ataca los tejidos duros del diente, afecta a la mayoría de la población colombiana (96.7%, Moncada OA, & Herazo B, 1984).

Al igual que todas las enfermedades infecciosas, factores múltiples colaboran para que en el individuo se dé el rompimiento del equilibrio que mantiene la salud dental. Cuando la caries se presenta, se dan cambios en el hospedero y en la flora, bien sea como parte fundamental en la etiología o como consecuencia del desequilibrio presentado. Esos cambios indican: o bien presencia de la patología, o susceptibilidad a que la situación se presente, y como tal pueden servir como diagnóstico del proceso carioso, o como condiciones favorecedoras de él. En el hospedero, cambios en la tasa y capacidad amortiguadora salivar (CAS), en la composición del diente, y cambios fuertes en la microflora de la placa dental y la saliva con referencia a un aumento de *Streptococos* del grupo "mutans" (Sm), *Lactobacilos* (Lb) y *Candidas* (Can).

Fitzgerald R. y col. (1981) encontraron que los *Lactobacilos* tienen un potencial cariogénico, así mismo Kohler B y Bjarnason S (1987) estudiaron la prevalencia de *Streptococos* del grupo "mutans" y *L. salivarius*, encontrando que los niños con alto recuento de *Streptococos* del grupo "mutans" y *L. salivarius* mostraron cuatro veces más alto su índice de prevalencia de caries, que los niños con un bajo recuento de estos microorganismos. Marlay E (1970), encontró que el recuento de *Lactobacilos* y el test de Snyder estuvieron correlacionados con la evaluación clínica del incremento de caries, y con caída de la Capacidad amortiguadora salivar. Aunque otros autores (Klock B y Krasse B, 1977, 1979) no encontraron correlación del recuento de *Lactobacilos* con el número de lesiones cariosas, sí encontraron correlación con el número de superficies cariadas y obturadas.

Hodson J. y Craig G (1972) sugieren una alta incidencia de *Candida* en niños con cavidades cariosas. En estudios realizados en Finlandia por Pienihakkinen K 1987 y en Escocia por Russell JI y col., 1990, encontraron asociación entre los niveles de *Candida* (Can) y otros factores microbianos con la prevalencia de caries: la caries de los portadores era más significativa que la de los no portadores.

Para tener mayor confiabilidad en la predicción, se deben correlacionar varias pruebas de susceptibilidad (Brathall D y Carlsson J, 1986). Varios autores han tratado de correlacionar las diferentes pruebas mencionadas con caries (Klock B y Krasse B, 1977, 1979; Pienihakkinen K, 1987; Bentley, Crawford y Broderius, 1988, Russell JI y col 1990; Karjalainen S y col, 1992).

En los últimos años ha sido evidente que la caries dental sólo puede ser prevenida si la profesión dental llega a tener conocimiento de todas las variables biológicas que influyen en el patrón de la enfermedad.

En el presente trabajo estudiamos en niños escolares de 9 a 11 años, del municipio de Caldas, Antioquia, la correlación de los índices clínicos de caries con el recuento salivar de *Lactobacilos* (Lb) y *Candida* (Can). Simultáneamente en estudios paralelos se analizará la Capacidad amortiguadora salivar y el recuento de *Streptococos* del grupo "mutans" (Sm) (Sierra LI, Gaviria DM, col., 1995, Sierra LI, Uscátegui R, y col, 1995).

MATERIALES Y METODOS

I. Características de la muestra.

Universo gráfico y temporal. La población estudiada fueron niños escolares del municipio de Caldas (Antioquia), la cual tiene una altitud de 1700 metros sobre el nivel del mar y una temperatura de 21°C, no posee flúor en el agua y cuenta con un hospital local.

La caries es una patología altamente prevalente en este municipio, ocupando el tercer lugar dentro de las 5 primeras causas de morbilidad. En este municipio la población escolar fue de 8.302 niños (censo de 1990), 4.237 hombres y 4065 mujeres. La población asignada para recibir tratamiento odontológico en el hospital local fue de 6.642 y sólo 1.141 asistieron a consulta, obturándose 4.070 dientes con material definitivo. 680 dientes fueron extraídos, siendo aproximadamente 4.750 dientes cariados en la población atendida.

Se estima que el número de niños cuyas edades oscilan entre 9 y 11 años es de 2.000. Se estimó un tamaño muestral corregido de 195, estableciendo una confiabilidad $(1 - \alpha)$ del 95% y un error ϵ de 0.04.

Se tomaron todos los niños entre las edades de 9 a 11 años cumplidos en una escuela de Caldas, Antioquia, donde se informó sobre el estudio a los profesores, niños y padres, contando con su colaboración. La muestra inicial consistió en 200 niños médicamente sanos, sin aparatología ortodóncica o coronas de acero, con consentimiento informado de los padres y autoridades escolares. (Estos eran todos los niños de la escuela que cumplían con los requisitos de edad y salud general mencionados, haciendo notar que la mayoría eran hombres). Con el retiro de la escuela de 4, se analizaron completamente para cultivos, la saliva de 196 y una niña se retiró en el momento de la encuesta dietética (caso reportado en otro trabajo: Sierra LI, Uscátegui R., y col, 1995) quedando 196 niños escolares de 9 a 11 años cumplidos, 174 niños y 22 niñas.

II. Procedimiento seguido en los pacientes

A. Historia clínica

El fichado de caries se realizó con un explorador Hu-friedy No. 5 y espejo sin aumento marca Hu-friedy No. 5. Fue realizado siempre por la misma investigadora. Se tomaron 3 radiografías bite-wing, 2 posteriores y una anterior (marca Kodak, No. 2) con técnica paralela, las cuales fueron reveladas en revelador automático marca Durr-periomat.

También se realizó índice de higiene oral (HO), el simplificado de Greene y Vermillon (Spolsky V, 1990) con revelado de placa dental con sustancias reveladoras, índice de caries CO_s (superficies cariadas y obturadas). Se registró la presencia de sellantes, historia de aplicación de flúor tópico, y profilaxis con copa de caucho. En un estudio paralelo se realizó encuesta dietética, para mirar el consumo de sacarina.

B. Toma de la muestra de saliva

En cita diferente de la historia clínica los pacientes fueron citados de 8-9 a.m. en subgrupos de 15. A cada paciente se le dio un trozo de parafina para ser masticada durante 5 minutos (Birkhed D y Heintze U, 1989). La primera secreción (3 ml.) se recogió en tubo estéril plástico con tapa y se utilizó para medir el pH (estudio paralelo), la segunda secreción se recolectó en vaso plástico estéril con tapa para los cultivos microbiológicos de Lactobacilos y Sm. La tercera muestra se recolectó luego de que el paciente realizara un enjuague con 10 ml de capacidad amortiguadora salivar de fosfato 0.1M y pH de 8.2, durante un minuto, para cultivos de Can.

III. PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

A. Cultivo de Candidas (Can) y lecturas.

El enjuague de saliva y capacidad amortiguadora salivar de fosfato salino se centrifugó a 1.700 R.P.M. durante 10 minutos, se descartó el sobrenadante y se realizaron diluciones del sedimento con la capacidad amortiguadora salivar de 10⁻² y 10⁻⁴, se sembró por duplicado en Sabouraud dextrosa agar. Se incubó durante 48 horas a 37°C. Luego se realizó el recuento y algunas colonias al azar se confirmaron por Gram.

La Candida se cultiva en Sabouraud dextrosa agar o en otros medios selectivos similares (Hoffman 1982), incubado a temperatura ambiente o a 37°C desarrollándose colonias blancas, lisas, húmedas, color cremoso con olor a levadura, después de unos 4-5 días de cultivo (Hoffman 1982, Jawetz 1987). El desarrollo superficial consiste de células gemantes ovoides. El desarrollo sumergido consiste en pseudomicelios. Este está compuesto de pseudohifas que forman blastosporas en los nódulos y algunas veces clamidosporas en sus terminales (Jawetz 1987).

B. Cultivo de Lactobacilos y lecturas

Con dilución de saliva en caldo de BHI al 50%, hasta 10⁻⁴ y 10⁻⁵, se sembró por duplicado en Rogosa agar en profundidad. Se incubó en jarra con vela a 37°C durante 48 horas, luego se contaron las colonias típicas. Se realizó al azar extendidos de Gram para confirmar la presencia de bacilos gram positivos.

El aislamiento y recuento de Lactobacilos se hace en medios de agar selectivos como el agar Rogosa SL, los cuales suprimen el crecimiento prácticamente de todos los otros microorganismos, permitiendo un alto contenido de acetato y otras sales, una superficie de tensión deprimida y un pH ácido (5,4), lo cual provee una adecuada nutrición para el Lactobacilo (Birkhed 1981, Miller 1990).

IV. PLAN DE ANALISIS

El procesamiento descriptivo, el inferencial univariado y multivariados, así como algunos otros procedimientos para datos categóricos y continuos se ejecutaron a través del paquete estadístico STATGRAPHICS.

V. RESULTADOS

A. Análisis de las variables

La distribución de la muestra por edad y sexo se observa en el cuadro 1. En la Escuela estudiada los niños constituían la mayoría de la población en la edad entre 9 y 11 años. Sólo 11 niños habían recibido asesoría dietética, consejos médicos más asociados a obtener una mejor nutrición que una real asesoría con relación a caries. El 100% de la muestra había recibido topicaciones con flúor y al 70% se les había colocado sellantes de fisura.

CUADRO No. 1

Distribución de los niños - 196 niños edad y sexo.

Edad en años	niños	niñas
9	49	10
10	92	12
11	33	0

La distribución por sexo, nos muestra la dificultad de auscultar sobre las variables del estudio en las mujeres. Sin embargo con esta limitación el grupo de niñas no mostró diferencias con respecto al grupo de los niños en el comportamiento de las variables estudiadas, excepto en la variable capacidad amortiguadora salivar y el consumo total de sacarosa (Sierra LI, Gaviria DM, col., 1995, Sierra LI, Uscátegui R, y col., 1995).

El cuadro 2 muestra un resumen estadístico acerca del comportamiento de las variables en el estudio.

CUADRO No. 2

Variables: Índices de HO (Higiene oral), CO,s (índice de caries), recuentos de Lb (Lactobacilos) y Can (Candidas) en los 196 niños escolares de 9-11 años.

Indicadores estadísticos	Índice HO	Índice CO,s	Lb UFC x 10 ⁵ /ml	Can UFC x 10 ³ /ml
Media (Desv. Std)	1.35 (0.61)	13,6 (9.71)	83.1 (282.5)	0.52 (2.44)
Media niños	1.34 (0.62)	13.83 (9.84)	92.32 (298.57)	0.58 (2.58)
Media niñas	1.55 (0.55)	12.17 (8.31)	11.95 (23.6)	0.06 (0.31)
Mediana	1.3	12.0	1.5	0.0
Rango	3.0	50.0	2.070	24.0
Cuartil 1	1.0	6.5	0.0	0.0
Cuartil 3	1.65	19.5	25.25	0.0

El 85% de la muestra tuvo higiene oral (HO) entre buena y regular. El promedio de superficies cariadas y obturadas por estudiantes fue de 13.62, lo que realmente muestra el problema de salud oral en esta población. El 50% de la muestra tiene CO,s entre 6.5 y 19.5. Libres de caries fueron 8.

Sólo 28 niños (14.2%) tenían recuentos de Candidas (Can) (Ver Cuadro 3), por lo que esta variable no pudo ser muy bien analizada. En el cuadro 3 se muestran los recuentos. La Candida es mas frecuente entre los niños con CO,s > de 5. Sólo 2 pacientes de los niños con poca caries tenían Candida y con bajos recuentos.

CUADRO No. 3

Distribución de los recuentos de Candida salivar en los 196 niños escolares de 9-11 años de edad.

x10 ³ UFC/ml	Frecuencia	%
0 - 0.5	7	3.57
0.6 - 1	4	2.04
1.1 - 1.5	5	2.55
1.6 - 6	9	4.59
6 - 24	3	1.53

Los Lactobacilos (Lb) se encontraron en dos terceras partes de la muestra en recuentos mayores de 10⁵UFC/ml. En el cuadro 4. se ve la distribución de estos microorganismos en la muestra.

CUADRO No. 4

Distribución de los recuentos salivares de Lactobacilos en los 196 niños escolares de 9-11 años.

x10 ⁵ UFC/ml	Frecuencia	%
0	66	33.6
0 - 200	110	56.1
200 - 400	11	5.6
400 - 600	3	1.5
> 600	6	3

B. Análisis de correlaciones

A través del coeficiente de correlación de Pearson se procedió a medir el grado de asociación lineal entre las variables. Ver cuadro 5. No se mostró correlación entre las variables. Con el fin de auscultar con más detalle la estructura de correlación se procedió a dividir la muestra en cuartiles.

En el grupo de menor caries (cuartil 1: CO,s menor de 6.5) no se muestra ninguna asociación lineal entre las variables. Cuando en el grupo de mayor caries (CO,s mayor de 19, cuartil 3) se cruzaron las variables con los datos de la investigación paralela (ver cuadro 6) el consumo de sacarosa (SAC) y los Lactobacilos se hallan asociados ($r = 0.325, = 0.02$) aunque de una manera débil.

Correlación por sexo. El sexo no estuvo igualmente representado en la muestra y no hubo asociación con las variables Lactobacilos y Candida.

CUADRO No. 5

Asociaciones lineales entre las variables (Pearson). N = 195 niños escolares de 9-11 años.

CO,s índice de caries, HO índice de higiene oral, Lb Lactobacilos, Cand Candida.

CORRELACIONES SIMPLES				
	CO,s	HO	Lb	Cand
CO,s	1.000*	.1630	.0939	.0752
	.0000**	.0228	.1915	.2961
HO		1.000	.0401	.0611
		.0000	.5778	.2961
Lb			1.0000	.0229
			.0000	.7508
Cand				1.000
				.0000

* R = Coeficiente de correlación

** alfa = Nivel de significancia

CUADRO No. 6

Asociaciones lineales (Pearson) en el grupo de 49 niños escolares de 9-11 años con mayor caries. (CO,s > 19.5).

Tomado de investigación paralela. (Sierra, Uscátegui y col. 1995). CO,s índice de caries, HO higiene oral, Sm *Streptococos del grupo "mutans"*, CAS capacidad amortiguadora salivar, Cand *Candidas*, SAC ingesta de sacarosa, Fre SAC frecuencia de ingesta de sacarosa.

	CO,s	HO	Sm	CAS	Lb	Cand	SAC	Fre SAC
CO,s	1.000	.1539	.3695	.0442	-.0090	-.1626	.1990	.2198
	.0000	.2910	.0090	.7631	.9511	.2643	.1751	.1333
HO	1.000	.4349	-.1253	.1206	.0007	.0738	.0389	
	.0000	.0018	.3911	.4092	.9964	.6182	.7928	
Sm	1.000	-.0635	.0244	.1125	.1185	-.0556		
	.0000	.6649	.8676	.4417	.4226	.7073		
CAS	1.000	.2023	.0368	.0980	.2621			
	.0000	.1634	.8016	.5030	.0656			
Lb	1.0000	.1484	.3253	.2179				
	.0000	.3088	.0226	.1327				
Cand	1.000	.1438	.0539					
	.0000	.3243	.7131					
SAC	1.000	.7208						
	.0000	.0000						

* R = Coeficiente de correlación

** alfa = Nivel de significancia

DISCUSION

Esta población se caracteriza por un índice de caries alto, un alto recuento de *Streptococos del grupo "mutans"* y un alto consumo de sacarosa. (Sierra LI, Gaviria DM, col., 1995, Sierra LI, Uscátegui R., y col, 1995).

A estos niños se les ha dado instrucción de higiene oral, han realizado autotopicaciones de flúor al menos una vez al año y tienen una higiene oral regular. La caries dada por el índice de CO,s se correlacionó principalmente con *Streptococos del grupo "mutans"* e inversamente con Capacidad amortiguadora salivar.

Rask PI y col, 1991, encontraron que el recuento de *Lactobacilos* no varió en adultos, al igual que la Capacidad amortiguadora salivar.

El recuento de *Lactobacilos* en boca aumenta cuando hay lesión establecida de caries, ya que estos microorganismos son acidúricos, o sea, que un pH bajo ayuda a su crecimiento, lo cual sucede en las lesiones cariosas donde el pH permanece bajo y hay difícil acceso para la saliva. Esto hace posible entender por qué estos microorganismos forman un porcentaje tan reducido de la flora normal bucal. Por lo anterior

algunos autores deducen que esta especie es más una consecuencia que una causa en la iniciación de la caries. (Miller 1990, Schachtele 1990).

En una revisión completa sobre las pruebas de susceptibilidad a las caries, y en especial sobre la importancia del recuento de *Lactobacilos*, M. Duque, 1960, reportó investigaciones que sustentan la importancia de los *Lactobacilos*, para muchos factor etiológico de caries, para otros oportunista, desde comienzos de este siglo: autores tales como Moro, Goadby en los años de 1910 y 1915 trabajaban con bacterias similares a los *Lactobacilos* y reconocían sus propiedades acidúricas. Howe y Hatch en el año de 1917 encontraron *Lactobacillus acidófilus* en cavidades con caries, Fosdyck y Hansen, en 1936, mencionaron que los *Lactobacilos* producen más ácidos y en más corto tiempo cuando se utilizaron hongos asociados con ellos. Bunting, Nickerson y Jard aislaron entre 184 individuos libres de caries, sólo un individuo con *Lactobacilos* y en contraste aislaron este microorganismo en 237 de 243 pacientes con caries activa. En esta revisión Duque, M. concluyó en ese momento (1960): Los azúcares son un factor dietético potente en la actividad cariogénica, ésta se aumenta si se aumentan los azúcares refinados en la dieta, la mayor diferencia entre los individuos inmunes y los susceptibles es el recuento de *Lactobacilos* en su boca, y finalmente que dicho recuento se disminuye cuando se reduce la ingestión de azúcar refinado en la dieta.

Schachtele (1990) llega a conclusiones similares cuando afirma que aumentando o disminuyendo el nivel de carbohidratos fermentables en la dieta se producen cambios en el nivel de *Lactobacilos* salivares.

Los *Lactobacilos* son muy importantes en caries de fosas y fisuras y caries dentinal probablemente como resultado de su naturaleza acidúrica. El *Lactobacilo* es importante en la progresión de lesiones cariosas después de que la lesión ha sido iniciada por la actividad de otros microorganismos, principalmente *S. mutans* y *S. sobrinus*. o sea, que son invasores secundarios que pueden contribuir a la progresión de la caries debido a sus propiedades acidogénicas y acidúricas.

Nuestro estudio no mostró correlación del índice de caries CO,s con *Lactobacilos*, al igual que Klock B y Krasse B (1979) y a diferencia de autores antiguos mencionados en la anterior revisión y de otros más recientes como Karjalainen S, y otros (1992), Marlay (1970), Bentley C, Crawfor JJ y Broderius CA (1988), Pienihakkinen K (1987). En el grupo de mayor caries se encontró correlación de los *Lactobacilos* con la ingesta de sacarosa. Es interesante anotar de nuevo que en estos niños la ingesta de sacarosa es alta, y los *Streptococos del grupo "mutans"* son prevalentes, y posiblemente por esto, estas variables no se asocian a los recuentos de *Lactobacilos*.

Observaciones in vitro han indicado el papel de las especies de *Candida* en la ecología de la microflora oral, donde desarrollan una cantidad de relaciones simbióticas y antagónicas (Burnett 1982, Pienihakkinen 1987). Existen simbiosis entre algunas especies de *Candida* y algunas especies de *Estafilococos* y *Streptococos* Beta-hemolíticos (Burnett 1982). Las especies de *Candida* generalmente tienen un efecto estimulante sobre los *Lactobacilos* in vitro, proporcionando factores de crecimiento esenciales, estos últimos tienen una acción inhibitoria sobre las levaduras debido a la acumulación de ácido láctico y otros. No obstante, la existencia de tal mecanismo no ha sido demostrada in vivo (Burnett 1982).

La incidencia de *Candida* en boca varía en adultos entre un 10% y un 80% (Miller 1990) y en niños de un 27% a 80% dependiendo del estudio y su metodología (Pienihakkinen 1987).

A pesar de que las levaduras son acidúricas y levemente acidogénicas, ellas no han sido muy estudiadas con relación al incremento de caries (Pienihakkinen 1987).

La *Candida* fue encontrada en el presente estudio en un pequeño número de la población estudiada y no se correlacionó con las demás variables contrario a otros autores (Russel JI y otros, 1990; Hodson J y Craig G, 1972).

Con las limitaciones en la población de la muestra en relación al sexo, se observa la tendencia a que la actividad cariosa en las mujeres puede estudiarse mejor que en los hombres de acuerdo con los recuentos de *Streptococos* del grupo "mutans" y *Lactobacilos*.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones de la Facultad de Odontología por su colaboración económica y su asesoría.

BIBLIOGRAFIA

- Bentley C, Crawford JJ and Broderius CA 1988. Analytical and physiological variability of salivary microbial counts. *J Dent Res* 67 (11) 1409-1413.
- Birkhed, D., Edwardsson, S., and Andersson, H. 1981. Comparison among a dip-slide test (Dentocult) plate count and Snyder test for estimating number of lactobacilli in human saliva. *J. Dent. Res.* 60 (11) 1832-1841.
- Brathall D and Carlsson J. 1986. Current status of caries activity test. *Textbook of cariology*, Thylstrup, A. and Fejerskov, O. editors, Copenhagen, Chap. 13, pág. 249.
- Burnett, G. & Schuster, G. 1982. Flora Microbiana de la cavidad oral. *Microbiología Oral Y Enfermedad Infecciosa*. Editorial Medica Panamericana, Buenos Aires. Cap. 16. Págs.: 181-192.
- Duque, M. 1960. Pruebas de susceptibilidad a la caries. *Publicaciones Científicas y educacionales*. Secretaría de Salud Pública de Antioquia, Sección Odontología Sanitaria, Medellín, Colombia. No. 1 pp. 1-26.

- Fitzgerald R, Adams, BO, Fitzgerald, DB and Knox KW. 1981. Cariogenicity of human plaque *Lactobacilli* in Gnotobiotic rats. *J Dent Res* 60 (5). 919-926.
- Hodson J. and Craig G. 1972. The incidence of *Candida albicans* in the plaques of teeth of children. *Dent. Practit.* 22 (8): 296-300.
- Hoffman, H. 1982. *Bacilos Grampositivos*. *Micología*. Capítulos 14 y 21. *Microbiología Odontológica*, W.A. Nolte, Tercera edición, Interamericana. Pág.: 424-431.
- Jawetz, E., Melnick, J. Adelberg, E. 1987. *Micología médica*. En: *Microbiología Médica*. 12a. edición. Editorial el Manual Moderno, México D.F. Cap.: 31. Pág.: 339-341.
- Karjalainen S., Hannula P, Söderling E, Le bell Y. 1992. Oral health of 11-year-old yeast carriers. *Caries Res* 26 (3): 232 abs 89.
- Klock B. and Krasse B. 1977. Microbial and salivary conditions in 9- to 12- years -old children. *Scand J Dent Res* 85 (1): 56-63.
- Klock B. and Krasse B. 1979. A comparison between different methods for prediction of caries activity. *Scand J Dent Res* 87 (2) p. 129-139.
- Kohler B. y Bjarnason S. 1987. Mutans *Streptococci*, *Lactobacilli* and caries prevalence in 11- and- 12- years- old Icelandic children. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*. 15 (6): 332-335.
- Mandel I. 1974. Relation of saliva and plaque to caries. *J Dent Res* 53 (2 part 1): 246-266.
- Marlay E. 1970. The relationship between dental caries and salivary properties at adolescence. *Aust Dent J* 15 (5):412-422.
- Miller, C. 1990. The oral microbial flora. Cap. 49. *Oral Microbiology & Infectious Disease*. G. Schuster. Third edition. B.C. Decker, Inc. Philadelphia. Pág.: 479.
- Moncada OA, Herazo B. 1984. Morbilidad Oral. Estudio Nacional de Salud. Instituto Nacional de Salud. Ministerio de Salud. Ascofame. pp. 41- 54.
- Pienihakkinen K. 1987. Caries prediction through combined use of incipient caries lesions, salivary amortiguadora ing capacity, lactobacilli and yeast in finland En: *Community dent oral epidemiol* 15: 325-8.
- Russell JI, Mac-Farlane, TW, Aitchison, TC, Stephen KW, Burchell, CK. 1990. Caries prevalence and microbiological and salivary caries activity tests in Scottish adolescents. *Community Dent Oral Epidemiol*; 18: 120-5.
- Schachtele C. 1990. Dental Caries. In: *Oral Microbiology and infectious Disease*, Schuster, B.C. Becker inc, Philadelphia, 3th Edition. Chapter 51 p. 479-515.
- Schroeder U. and Edwardsson S. 1987. Dietary habits, gingival status and occurrence of *Streptococcus mutans* and lactobacilli as predictors of caries in 3-year-olds in Sweden. *Community Dent Oral Epidemiol*; 15: 320-4.
- Sierra, LI, Gaviria DM, Alvarez P, Galeano ME, Estrada MS, Restrepo B, Arbeláez MI, Parra CM, Uscátegui R. 1995. Correlación de las pruebas de susceptibilidad a la caries: Recuentos salivares de *Streptococos* del grupo "mutans" y capacidad amortiguadora salivar, en escolares. *Rev. Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia*, 6 (2): 21-27.
- Sierra, LI, Uscátegui R, Gaviria DM, Alvarez P, Restrepo B, Parra CM, Estrada MS, Galeano ME. 1995. Correlación de las pruebas de susceptibilidad a la caries: Índices clínicos de caries e ingesta de sacarosa, en escolares. *Rev. Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia*, 6 (2): 7-14
- Spolsky V Jr. 1990. La epidemiología de la enfermedad gingival y periodontal. *Periodontología Clínica de Glickman*. Carranza, F. editor, Interamericana. México D.F., Séptima edición en español pág. 335 a 337 cap. 23.