



Universidad  
Nacional  
de Córdoba



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**“MANCHAS NEGRAS EXTRÍNSECAS EN EL ECOSISTEMA  
BUCAL: RELACIÓN CON LA CARIES DENTAL”**

TESISTA:

**OD. MIRTHA RITA GANDOLFO**

DIRECTOR:

**PROF. DRA. MGTER ANA MARÍA ZARATE**

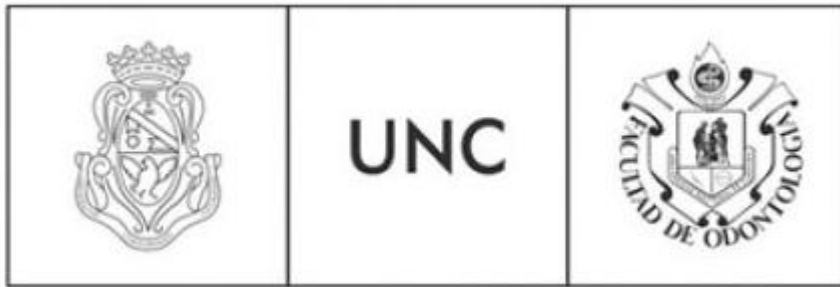
CODIRECTOR:

**PROF. DRA. MIRTA SPADILIERO DE LUTRI**

**CÓRDOBA, 2019**



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-  
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
ESCUELA DE POSGRADO**

**“MANCHAS NEGRAS EXTRÍNSECAS EN EL ECOSISTEMA BUCAL:  
RELACIÓN CON LA CARIES DENTAL”**

Tesista:

**PROF. OD. MIRTHA RITA GANDOLFO**

Director:

**PROF. DRA. MGTER ANA MARÍA ZARATE**

Codirector

**PROF. DRA. MIRTA SPADILIERO DE LUTRI**

**Córdoba, 2019**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**ESCUELA DE POSGRADO**

**“MANCHAS NEGRAS EXTRÍNSECAS EN EL ECOSISTEMA BUCAL:  
RELACIÓN CON LA CARIES DENTAL”**

**“Trabajo de tesis para optar al título de  
Doctor en Odontología”**

**Prof. Od. Mirtha Rita Gandolfo**

**AÑO: 2019**

Director de Tesis

**Prof. Dra. Mgter. Ana María Zarate**

Codirector de tesis:

**Prof.Dra. Mirta Spadiliero de Lutri**

Comisión de seguimiento de tesis:

**Prof. Dra. Mgter. Ana María Zarate**

**Prof. Dra. Alfonsina Lescano de Ferrer**

**Prof. Dr. Jorge Paván**

Jurado de tesis:

**Prof. Dra. Alfonsina Lescano de Ferrer**

**Prof. Dr. Jorge Paván**

**Prof. Dra. Elena Vuoto (evaluadora externa)**

## **DEDICATORIAS**

---

**A los motores en mi vida: “mis hijos”**

**Christian Adrián Sorsini**

**Daniela Nadia Sorsini**

**A la memoria de mis padres que fueron mi ejemplo a seguir.**

## **AGRADECIMIENTOS**

---



A Dios por dejarme llegar a la cima en esta meta tan deseada.

A la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, que me permitió y permite mi desempeño y desarrollo docente y profesional.

A mi maestra, Prof. Dra. María Magdalena Galiano de Bolesina, por ser mi guía y orientarme en la elección del tema de mi tesis doctoral, y por dar lugar a que se llevase a cabo en la Cátedra de Integral Niños y Adolescentes, Área Odontopediatria “A”, Universidad Nacional de Córdoba.

A la Dra. Ana María Zarate, Directora de mi trabajo de tesis, por su aporte con una inmensa calidez humana, acompañando en todo el proceso de la misma.

A la Prof. Dra. Mirta Spadiliero de Lutri, codirectora de mi trabajo de tesis por sus valiosos y desinteresados aportes.

A los integrantes del tribunal de tesis de seguimiento Prof. Dra. Alfonsina Lescano de Ferrer y Prof. Dr. Jorge Paván, por sus observaciones y aportes cualitativos, que me llevaron a ampliar mis conocimientos y criterios científicos, enriqueciendo y perfeccionando de ese modo la presentación de este trabajo de tesis doctoral.

Al técnico Darío Arbelo por enseñarme el manejo del laboratorio de microbiología, por su compromiso y responsabilidad junto al aporte humano.

A la Dra. Mabel Brunotto, por su apoyo dado con mucho profesionalismo en la realización del procesamiento estadístico de los datos.

A mis colegas y compañeras docentes de la Cátedra de Integral Niños y Adolescentes. Área Odontopediatria “A y B” de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, por su solidaridad.

A la Odontóloga Carolina Raimondo por su compromiso y colaboración, la que permitió en una etapa de mi vida personal, continuar con el desarrollo del trabajo de tesis.

A los pacientes, que conformaron la muestra de este trabajo de tesis, y a los padres que colaboraron y confiaron en este trabajo, aceptando el desafío de cumplir con las exigencias en el tratamiento.

Finalmente a todos aquellos que de una y otra forma hicieron posible esta tesis.

**“Todos tus sueños pueden hacerse realidad si tienes el coraje de perseguirlos”.**

**Walt Disney**

## **CERTIFICACIONES**

---



Gobierno de Córdoba  
Ministerio de Salud

# REGISTRO PROVINCIAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD (RePIS) REGISTRO DE INVESTIGACIONES NO PATROCINADAS

N° DE RePIS  
DE INVESTIGACIONES NO  
PATROCINADAS  
REGISTRADAS EN CIEIS  
**000 44**

**I. PATROCINANTE** (Universidad, Fundación, Institución que otorga beca. Corresponde marcar NO, si es independiente de autogestión)

Posee Patrocinante	SI <input type="checkbox"/> NO <input checked="" type="checkbox"/>
Identificación	
Carácter	Público <input checked="" type="checkbox"/> Privado <input type="checkbox"/> Otro <input type="checkbox"/>

**II. TÍTULO**

Título de la Investigación	"MANCHAS NEGRAS EXTRÍNECAS EN EL ECOSISTEMA BUCAL: RELACIÓN CON LA CARIES DENTAL"
Especialidad Vinculada	caso-control
Objetivo principal	Determinar a través de estudios bioquímicos, bacteriológicos y moleculares la relación entre la mancha negra extrínseca y la menor actividad de caries dental.
Consentimiento informado (Versión y Fecha)	2013

**III. INVESTIGADOR**

Nombre Investigador Principal	Gandolfo, Mirtha Rita
-------------------------------	-----------------------

**IV. EQUIPO DE INVESTIGADORES**

Nombres	Zárate, Ana María
	Evjanian, Gladys

**V. TIPO DE INVESTIGACIÓN** (marcar con cruz lo que corresponda)

Descriptivo	<input type="checkbox"/> Descriptivo simple	Observacional	<input type="checkbox"/> de Cohortes
	<input checked="" type="checkbox"/> Descriptivo correlacional		<input checked="" type="checkbox"/> de Casos y Controles
	<input type="checkbox"/> Descriptivo longitudinal		

Otras (Describe):

**VI. CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO** (marcar lo que corresponda, pueden ser varias marcas)

<input type="checkbox"/>	Investigación en Genética humana
<input type="checkbox"/>	Investigación en Reproducción Humana
<input type="checkbox"/>	Estudios Farmacológicos en Fase I o II
<input type="checkbox"/>	Estudios Clínicos con Vacunas (cualquier Fase)
<input type="checkbox"/>	Investigaciones consideradas de alto riesgo
<input type="checkbox"/>	Nuevos procedimientos (aún no descriptos y/o validados en la literatura (aún en Fase IV))

MINISTERIO DE SALUD  
REGISTRO PROVINCIAL DE  
INVESTIGACIONES EN SALUD

**2346**

REGISTRADO

Fecha: 21/02/16 Firma:

Investigación con grupos vulnerables (niños, embarazadas, ancianos, pacientes psiquiátricos, discapacitados, poblaciones marginadas, prisioneros, etc.)

Estudios que incluyen investigación en farmacogenética

**VII. VINCULACIÓN INTERNACIONAL**

Investigaciones coordinadas desde el extranjero o con participación extranjera

Estudios que incluyen envío de material biológico al extranjero

**VIII. ALCANCE DEL ESTUDIO**

Estudios multicéntricos  Local  Nacional  Internacional

Otros:

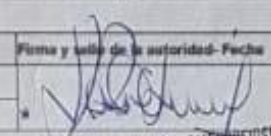
**IX. DURACIÓN**

Duración de la investigación (tiempo estimado desde el inicio a la terminación) **5 años**

**X. LUGAR DE REALIZACIÓN** N° DE REPIS DEL CENTRO

Establecimiento	FACULTAD DE ODONTOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA
Ciudad	CÓRDOBA
Domicilio	HAYA DE LA TORRE SIN PABELLÓN ARGEWITINA-FACULTAD DE ODONTOLOGÍA UNC- CIUDAD UNIVERSITARIA
Ámbito:	Público <input checked="" type="checkbox"/> Privado <input type="checkbox"/> Otros (Especificar)

**XI. AUTORIDAD RESPONSABLE DEL ESTABLECIMIENTO** Firma y sello de la autoridad- Fecha

Apellido y Nombre	Viviani, María del Carmen	 Prof. Dra. MARIA R. del CARMEN VIVIANI DECANA FACULTAD DE ODONTOLOGIA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA
Cargo	DECANA	

**XII. PÓLIZA DE SEGURO**

Compañía Aseguradora	San Cristóbal
Domicilio	San Martín N°: 733.
Ciudad	Córdoba
País	Argentina
Fecha de vencimiento (deber tener vigencia mayor a 15 días al momento de presentar este formulario)	02/10/2013
Póliza presenta renovación automática	<input checked="" type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
Periodo de duración de cada Renovación:	1 año

**XIII. COMITÉ INSTITUCIONAL DE ETICA DE LA INVESTIGACION EN SALUD DONDE SE PRESENTO EL ESTUDIO**

Nombre	Comité Institucional de Ética en Investigación en Salud
Institución	Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba
Coordinador	Dra. María Elsa Gómez de Ferraris


La información de este formulario tiene carácter de declaración jurada por lo que no se aceptarán inscripciones manuales ni enmiendas realizadas al mismo.

Dra. **ESTHER GANDOLFO**  
 ODONTOLOGA  
 U.P. 4002

Firma Investigador Sello Fecha **15/08/2013**

**IV. INFORME CIEIS**

Resultado Evaluación CIEIS	<input type="checkbox"/> Condicionada
	<input checked="" type="checkbox"/> Aprobada
	<input type="checkbox"/> Rechazada

  
 Prof. Dra. Lidia E. Levin  
 Coordinadora CIEIS  
 Fac. de Odontología UNC

Fecha **20-08-14**

## INDICE

---

<b>RESUMEN</b>	1
<b>ABSTRACT</b>	4
<b>INTRODUCCIÓN</b>	7
<b>Ecosistemas bucales</b>	8
<b>Manchas negras extrínsecas (MNE)</b>	9
Etiología de la MNE	10
Criterios de clasificación para el diagnóstico de la MNE	11
<b>Caries dental</b>	13
Factores de riesgo de la caries dental	18
Microbiota dental	18
Dieta	19
Saliva	19
<b>HIPÓTESIS</b>	23
<b>OBJETIVOS GENERALES</b>	25
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	25
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	26
Variables estudiadas	28
Recolección y análisis de datos	30
Toma de muestras de saliva estimulada	33
Toma de muestras de biofilm	34
Análisis estadístico de los datos	36
Diseño metodológico	37
<b>RESULTADOS</b>	38
<b>DISCUSIÓN</b>	46
<b>CONCLUSIONES</b>	53
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	55
<b>ANEXOS 1.</b> Consentimiento informado	66
<b>ANEXOS 2.</b> Asentimiento Informado	70
<b>ANEXO 3.</b> Historia clínica	71
<b>ANEXO 4.</b> Ficha de localización y extensión de la MNE	77
<b>ANEXO 5.</b> Ficha de frecuencia y grado de extensión	78

## Abreviaturas

- **MNE:** mancha negra extrínseca.
- **FP:** factor protector
- **OMS:** Organización mundial de la salud.
- ***S.mutans:*** *Streptococcus mutans*
- **R:** riesgo
- **RCD:** riesgo de caries dental.
- **F.R.:** factor de riesgo.
- **F.A:** frecuencia absoluta.
- **F.R:** frecuencia relativa.



**RESUMEN**

---

En el examen clínico bucal se puede evidenciar, en algunas ocasiones, sobre las superficies dentarias en dentición primaria, mixta y/o permanente de niños y adolescentes ciertas pigmentaciones a las que se las denomina *manchas negras extrínsecas* (MNE). Numerosos estudios han sugerido que la presencia de MNE está asociada con una menor actividad de caries dental lo que es válido tanto para dentición primaria como permanente. El objetivo de esta tesis doctoral fue estudiar la relación entre la MNE y la caries dental. Se evaluaron los factores de riesgo de caries dental comparando pacientes con y sin MNE sobre las superficies dentarias en niños y adolescentes para conocer si puede considerarse a la MNE como un factor protector ante la caries. Este trabajo se realizó en la Ciudad de Córdoba con pacientes que concurren a la cátedra Odontopediatría “A” de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba en el período 2014-2017. La población de estudio estuvo conformada por (n=28) niños y adolescentes con MNE sobre las superficies dentarias, y (n=156) niños y adolescentes sin MNE sobre el esmalte dental. Se confeccionaron dos fichas para determinar, por un lado, extensión en grados I, II y III y localización y, por otro, frecuencia (*ad hoc*). Las variables que se midieron fueron: hábitos de higiene bucal, frecuencia y características de los alimentos consumidos (adhesivos o no adhesivos), índice de higiene bucal e índice de caries dental, saliva, y presencia en UFC/ml de *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) y *Lactobacillus* spp para luego establecer relaciones entre éstas y la presencia / ausencia de MNE. La prevalencia de MNE en la población estudiada fue del 1.78%. En este estudio se observó que, con respecto a la frecuencia diaria de cepillado dental, no hubo asociación significativa ( $p=0.9684$ ) entre los pacientes con MNE y sin MNE. Tampoco hubo una asociación significativa ( $p=0.8160$ ) entre los pacientes con y sin MNE en relación a la frecuencia o momentos de consumo de carbohidratos ni a las características de los alimentos consumidos (adhesivos o no adhesivos) ( $p=0.4536$ ). No se evidenciaron asociación significativa en el índice de higiene bucal (IHO-S) entre pacientes con MNE y pacientes sin MNE pero, entre ambos grupos de estudio, si hubo asociación significativa con respecto al índice de caries dental en la dentición primaria ( $p=0.0001$ ). En cuanto a la extensión de la MNE sobre la superficie dentaria, en la dentición primaria se observaron grado I y II, mientras que en la permanente se observaron solo grado I. En relación con la localización de la misma, éstas fueron observadas en dentición primaria en todas las caras (vestibular, palatinas y linguales) de todos los elementos dentarios.

En dentición permanente se observaron en caras palatinas en elementos 12, 11, 21 y 22 y, en caras linguales en elementos 42, 41, 31 y 32. En cuanto a la frecuencia de aparición de la MNE en la dentición primaria se presentó con mayor frecuencia el grado I en las superficies vestibulares de los elementos 53 (FA: 6, FR: 19%) y 63 (FA: 7; FR: 17%); el grado II se presentó con mayor frecuencia en las caras vestibulares de los elementos 64 (FA:6;FR 14%); 54 (FA:7; FR 16%), 65 (FA: 7; FR 16%), 55 (FA:7;FR 16%). En tanto que en la dentición permanente el grado I presentó mayor frecuencia en las caras linguales de los elementos 41 (FA. 4; FR 40%) y 31(FA. 4; FR 40%); el grado II se presentó con mayor frecuencia en las caras linguales de los elementos 42, 41, 31 y 32 (en todos FA:3;FR 25%). En un segundo estadio se procedió a la toma de saliva para evaluar flujo salival, pH, concentración de calcio y fosfato. Al medir flujo salival se observó que los pacientes con MNE presentaron un flujo salival normal en un 77% mientras que los controles presentaron, en su mayoría 79%, un flujo salival bajo. Hubo una asociación significativa ( $p= 0,0001$ ) entre la presencia o ausencia de MNE y la cantidad de flujo salival. Con respecto al pH salival no hubo asociación significativa entre ambos grupos ( $p= 0.1254$ ). Al medir concentración de calcio y fosfato en saliva, se encontró una asociación significativa ( $p=0.0001$ ) entre los valores de los pacientes controles y los pacientes con MNE y se observó mayor valor promedio de calcio y de fosfato en saliva en pacientes con MNE. Paralelamente se procedió a la toma de biofilm dental para estudiar y conocer la cantidad de UFC/ml para *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp. El análisis de las de UFC/ml para *Streptococcus mutans* mostró asociación significativa entre ambos grupos ( $p=0.0005$ ); también se observó asociación significativa ( $p=0.0003$ ) en las UFC/ml para *Lactobacillus* spp. Al realizar asociación estadística de todas las variables estudiadas se observó que la MNE formó parte del grupo de bajo riesgo cariogénico por lo que se podría considerar un factor protector.

**ABSTRACT**

---

In the clinical examination, it can be observed on the dental surfaces of children and adolescents, in primary, mixed and/or permanent dentition, some pigmentation called extrinsic black stains (EBS). Numerous studies have suggested that the presence of EBS is associated with a lower activity of dental caries which is valid for both primary and permanent dentition. The objective of this doctoral thesis was to study the relationship between EBS and dental caries. Risk factors of dental caries were evaluated taking into account patients with and without EBS on the dental surface so as to know if the EBS can be considered as a protective factor against the caries. This study was carried out in the city of Córdoba with patients who attended chair "A" of Pediatric Dentistry of the School of Dentistry, Universidad Nacional de Córdoba, for the period 2014-2017 period. The study population consisted of (n = 28) children and adolescents with EBS on tooth surfaces and (n = 156) children and adolescents without EBS on tooth enamel. Two different files were produced to determine, on the one hand, the extension in grades I, II, III and localization and, on the other hand, frequency (*ad hoc*). The following variables were measured: oral hygiene habits, frequency and characteristics of the food consumed (adhesive or non adhesive) oral hygiene index, caries index, saliva and presence in CFU / ml of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. Relationships were established between the variables and presence or absence of EBS. The prevalence of EBS in the study population was 1.78%. In this study it was observed that, regarding the daily frequency of tooth brushing, there was not a significant difference ( $p = 0.9684$ ) between the patients with EBS and without EBS. There was no evidence of significant association as regards the oral hygiene index (IHO-S) between patients with and without EBS; but, there was significant association (0.8160) between both groups of study as regards dental caries index of permanent dentition ( $p=0.0001$ ). Regarding the extension of the MNE on the tooth surface, grade I and II were observed in the primary dentition, while in the permanent dentition only grade I was observed. Localization of EBS were observed in primary dentition of all surfaces (vestibular, palatine and lingual) of all dental elements. In permanent dentition, it was observed in palatine surface in elements 12, 11, 21 and 22, and in lingual surface in elements 42, 41, 31, 32. As regards frequency of appearance EBS in primary dentition, grade I was present with more frequency in vestibular surfaces in elements 53 (FA: 6, FR: 19%) and 63

(FA: 7; FR: 17%); and grade II with more frequency in vestibular surfaces in elements 64 (FA:6; FR 14%); 54 (FA: 7; FR 16%), 65 (FA: 7; FR 16%), 55 (FA:7; FR 16%).As for permanent dentition, grade I was presented with more frequency in lingual surfaces in elements 41 (FA. 4; FR 40%) y 31(FA. 4; FR 40%). Grade II in elements 42, 41, 31, 32 in lingual surfaces prevailed (in all FA: 3; FR: 25%). On a second stage, saliva was taken to evaluate salivary flow, pH, calcium and phosphate concentration. When this salivary flow was measured, it was observed that patients with EBS had a normal salivary flow in a 77%; while most control patients presented a low salivary flow of 79%. There was also a significant association ( $p= 0.0001$ ) between the presence or absence of EBS and the amount of salivary flow. As salivary pH, there was not significant association among both groups ( $p=0.1254$ ). When measuring calcium and phosphate, significant association ( $p=0.0001$ ) was discovered between the values of the control patients and the patients with EBS. It was observed a higher average value of calcium and phosphate in saliva in EBS patients. At the same time, dental biofilm was measured to study and know the amount of CFU / ml for *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. The analysis of CFU / ml for *Streptococcus mutans* showed significant differences between both groups ( $p=0.0005$ ). It was also observed significant association ( $p = 0.0003$ ) in CFU / ml of *Lactobacillus* spp. When making a statistical association of all the variables studied, it was observed that the EBS was part of the group of low cariogenic risk, so it could be considered a protective factor.

## **INTRODUCCIÓN**

---

## **ECOSISTEMA BUCAL**

La cavidad bucal es considerada un ecosistema, pues en ella interaccionan componentes bióticos constituidos por los diferentes tejidos bucales y una microbiota característica y componentes abióticos, como los iones y saliva entre otros, todos ellos inmersos en un ambiente específico, sitio donde están estrechamente relacionados e interactúan unos con otros (1, 2, 3, 4).

La cavidad bucal es uno de los hábitats más densamente poblados del cuerpo humano (5). Las distintas regiones de la cavidad bucal presentan características particulares, pudiendo establecerse de ese modo diferentes **ecosistemas primarios** como son: las mucosas, las superficies dentales, el biofilm dental, el surco gingival, los materiales dentales y la saliva (6, 7,8, 9).

Estos ecosistemas primarios proporcionan una diversidad de hábitats con características especiales, en lo que se refiere a las concentraciones de oxígeno, al pH, a la disponibilidad de nutrientes, a la temperatura y exposición a factores inmunológicos; esto hace que la microbiota bucal sea variada y heterogénea, siendo diferente entre los distintos individuos, entre los diversos grupos etarios y también en los diferentes momentos de la vida de un mismo individuo (10,11).

La microbiota bucal es una estructura compleja, que se encuentra en forma de biopelícula sobre las distintas superficies de la cavidad bucal (12, 13), siendo fundamental su acción en la inducción, la formación y la función del sistema inmune del huésped (14).

La biopelícula, se define como una formación de agregados bacterianos, usualmente existentes como comunidades cercanamente asociadas e inmersas en una matriz de exopolímeros, que se adhieren a una variedad de superficies naturales y/o artificiales, la cual debe tener una concentración de nutrientes adecuados, para poder sostener las necesidades metabólicas de los mismos (12, 15, 16). Estos acúmulos de bacterias y sus productos después de adherirse fuertemente a las diferentes superficies bucales, continúan su formación, la cual comprende un patrón ordenado por medio de la colonización (17, 18).



### **MANCHA NEGRA EXTRÍNSECA (MNE)**

Al examen clínico bucal, en algunas ocasiones, se puede evidenciar sobre las superficies dentarias en dentición primaria, mixta y/o permanente, de niños y adolescentes, ciertas pigmentaciones a las que se las denomina *manchas negras extrínsecas (MNE)* (19, 20).

El tipo particular de pigmento que constituye la MNE ha sido considerado una forma especial de biopelícula dental que difiere de otros tipos, porque contiene una sal insoluble de hierro y un alto contenido de calcio y fosfato (21), lo que estaría relacionado con una capacidad buffer aumentada y mayores concentraciones de calcio y fosfato en la saliva de los pacientes que la presentan (22, 23).

La MNE actualmente es definida como una sustancia oscura exógena, que en la clínica se puede observar en las caras lisas de los elementos dentarios como puntos, como una línea pigmentada de coalescencia incompleta, como una línea fina de coalescencia completa o como una mancha; por lo general tiene una coloración que va del marrón oscuro al negro. Su localización es característica, pues comúnmente se la ve firmemente adherida o pegada al borde gingival del elemento dentario, y en algunos casos se desarrolla más allá del tercio cervical de la corona, sin extenderse a la zona interproximal (24, 25).

La MNE es una decoloración extrínseca, característica comúnmente observada en la superficie lisa del esmalte en el tercio gingival siguiendo el contorno de la encía (26, 27), las mismas se presentan aún en pacientes con buena higiene bucal (24).

Tanto la intensidad de la coloración como, el número de dientes afectados, varía enormemente entre los diferentes pacientes; la mayoría de las veces son varios los dientes coloreados, siendo raro encontrar la tinción negra en un solo elemento dentario aislado en un mismo paciente (28, 29) (figura1).

La MNE se presenta particularmente en la dentición primaria aunque los elementos permanentes también pueden estar afectados; aparecen a temprana edad sobre el esmalte dental, a los 2 o 3 años (11).

Diferentes estudios publicados han mostrado una prevalencia de la MNE que va entre el 1,55 y el 20%. (19, 20, 30).

Hay mayor prevalencia en la infancia descendiendo en la pubertad y en la edad adulta (32).

Algunos autores observaron que a medida que el niño va recambiando los elementos primarios por los permanentes, la tinción va desapareciendo (33) y en la mayoría de los casos la MNE desaparece espontáneamente al final de la segunda década de vida (34).



**Figura 1.** Paciente de 8 años, con MNE en las caras vestibulares.

### **Etiología de la MNE**

La etiología de esas pigmentaciones y los factores que intervienen en su aparición, su permanencia y su control, son temas controvertidos en la literatura (35).

Aunque su formación no está clara, una de las primeras investigaciones sobre su probable causa etiológica fue hecha por Reid et al 1977 (34) quienes informaron que se deberían a la formación de un compuesto férrico insoluble (sulfato ferroso) formado por el resultado de la interacción entre sulfuro de hidrógeno, producido por el metabolismo bacteriano y los iones férricos provenientes de la saliva y del exudado gingival de los sujetos portadores. La atracción de los materiales es importante para la formación de la MNE; las fuerzas de atracción incluyen las electrostáticas, de van der Waals, las fuerzas de hidratación, las interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno (36, 37).

En un estudio realizado por Zhang et al 2017, se confirmó por espectrometría de masa un nivel más elevado de hierro en la biopelícula de la MNE comparada con la biopelícula estándar (38).

En relación a las especies bacterianas que podrían cumplir un rol en la formación de la MNE, hipótesis iniciales sugirieron que estarían involucradas bacterias cromogénicas tales como *Prevotella melaninogénica*, (anteriormente *bacterioide melaninogénico*), *Porphyromonas gingivalis* (39, 40).

Sin embargo estudios posteriores, realizados utilizando la técnica de reacción en cadena de polimerasa ( PCR ) han descartado a esta especie bacteriana, ya que solo se encontró de ella un 1%, y describieron una reducida diversidad bacteriana en la MNE comparada con biopelícula estándar, con presencia de géneros como *Actinomyces*, *Cardiobacterium*, *Haemophilus*, *Corynebacterium*, *Tannerella* y *Treponema*, sumado a bajos niveles de *Campylobacter*, sugiriendo así una disbiosis como posible causa o factor que contribuya a la formación de la MNE (41,42).

En un estudio reciente de Ortiz López et al 2018, se demostró la presencia de *Tannerella forsythia* en el 83.9% de los pacientes con MNE estudiados (43, 44).

### **Criterios de clasificación de la MNE**

Como los sistemas normalizadores son útiles, para obtener una mejor comunicación, algunos autores establecieron diferentes criterios, por medio de índices numéricos, para nombrar y clasificar clínicamente a la MNE (45, 46) ellos fueron:

Shourie et al en 1947, denominaron a la MNE como placa dental pigmentada y registraron la presencia o ausencia de la misma clasificándola en:

- I. No hay ninguna línea de placa pigmentada.
- II. Coalescencia incompleta de placa pigmentada.
- III Línea continua formada por placas pigmentadas (47).

Leung et al en 1950, la llamaron mancha marrón y utilizaron cuatro anotaciones en grados:

Grado I: indica una línea fina oscura de 1 mm o menos de ancho en el tercio gingival de la superficie dentaria.

Grado II: indica una tinción negra que se extiende más allá del tercio gingival de la superficie dentaria.

Grado III: tinción negra que se extiende más allá del tercio gingival y medio de la superficie dentaria.

Grado IV: cuando implica la participación de toda la superficie gíngivo-oclusal (48).

Koch et al en 2001, hablando ya de MNE, utilizaron el siguiente criterio para su diagnóstico clínico: consideraron presencia de manchas oscuras (de diámetro inferior a 0,5 mm) que forman una coloración lineal, que se ubica paralela a la margen gingival en las superficies lisas de por lo menos dos elementos dentarios diferentes (49).

. Gasparetto et al 2003, añaden un nuevo criterio basado en la extensión de la superficie del diente afectado por la MNE (figura 2, 3 y 4).

Grado I: corresponde a la presencia de puntos pigmentados o finas líneas con coalescencia incompleta paralelas al margen gingival.

Grado II: indica la presencia de línea pigmentada continua, que es fácil de observar, y se extiende más allá del tercio cervical de la superficie del diente.

Grado III: indica la presencia de una mancha extendida más allá de la mitad del tercio medio de la superficie dentaria (50).

Ese estudio se alinea con la clasificación de Gasparetto et al.

- **Grado I:** presencia de puntos pigmentados o finas líneas con coalescencia incompleta paralelas al margen gingival.



**Figura 2.** Paciente de 5 años sexo femenino con MNE grado I.

- **Grado II:** presencia de línea pigmentada continua, que es fácil de observar, y se extiende más allá del tercio cervical de la superficie del diente.



**Figura 3.** Paciente de 8 años sexo femenino con MNE grado II.

- **Grado III:** presencia de manchas pigmentadas que se extienden más allá de la mitad del tercio medio de la superficie del diente.



**Figura 4.** Paciente de 4 años sexo masculino con MNE grado III.

La mayoría de los estudios publicados, expresan que la presencia de MNE sobre el esmalte de las superficies dentarias en niños y adolescentes, está asociada con una menor actividad de caries dental, en comparación con aquellos cuya dentición no la presentan, siendo esto válido tanto para dentición primaria como para permanente (47, 48,49, 50, 51, 52, 76).

### **CARIES DENTAL**

La caries dental es una enfermedad que afecta a los elementos dentarios, acompañando al ser humano desde la prehistoria (53). La Organización Mundial de la Salud (OMS) la ha definido, como un proceso localizado de origen multifactorial, que se inicia después de la erupción dentaria, determinando el reblandecimiento del tejido duro del elemento dentario y que evoluciona hasta la formación de una cavidad. En términos mundiales, entre el 60% y el 90% de los niños en edad escolar y cerca del 100% de los adultos tienen caries dental, a menudo acompañada sensación de molestia o dolor (54) (figura 5 y 6).

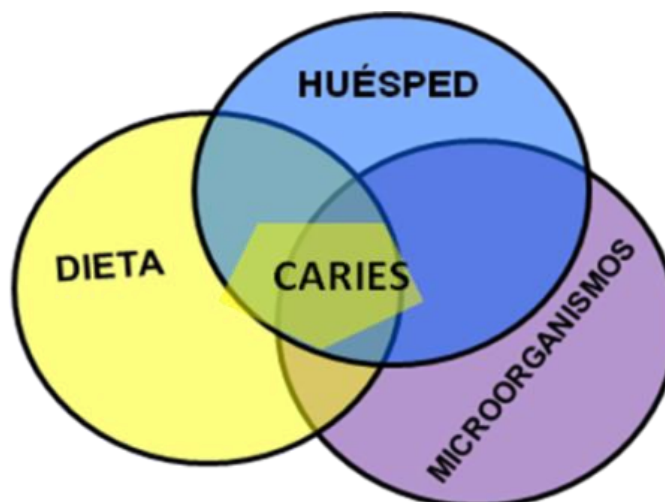


**Figura 5.** Paciente masculino de 8 años con dentición mixta con caries en maxilar inferior.

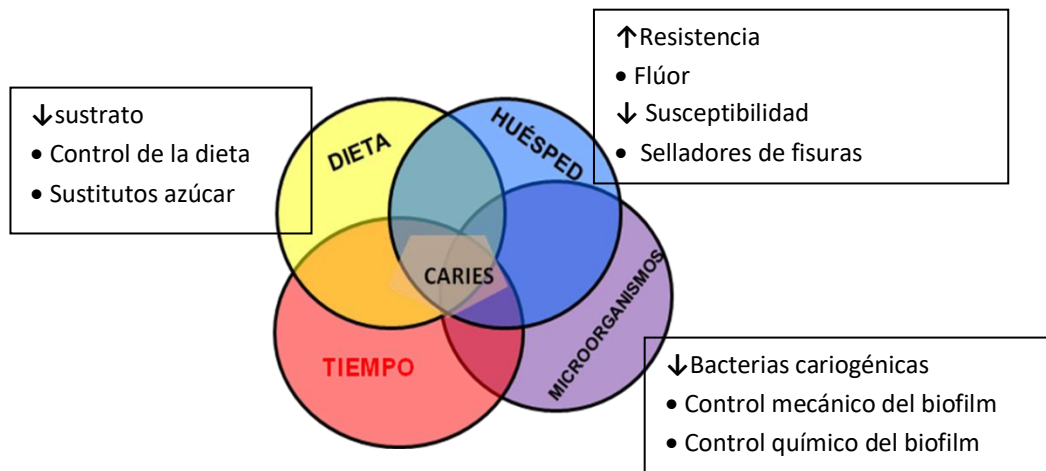


**Figura 6.** Paciente femenino de 5 años con dentición primaria con caries en la arcada superior.

En 1960 Keyes, (55) considerando ya a la caries como una enfermedad multifactorial propone un esquema clásico, la *tríada etiológica de Keyes*, para explicar cómo se instaura la enfermedad, estableciendo tres factores que la producen: la **microbiota, el huésped y la dieta** (figura 7). En 1978 Newbrum (56) modifica este esquema clásico, fundando en que para que se desarrolle la enfermedad de caries son necesarios tres factores pero, mantenidos en el **tiempo**: una “**microbiota cariógena**”, localizada en la placa bacteriana, que en presencia de un factor “**sustrato adecuado**” suministrado por la dieta, logra afectar a un factor “**diente u hospedador susceptible** (figura 8).

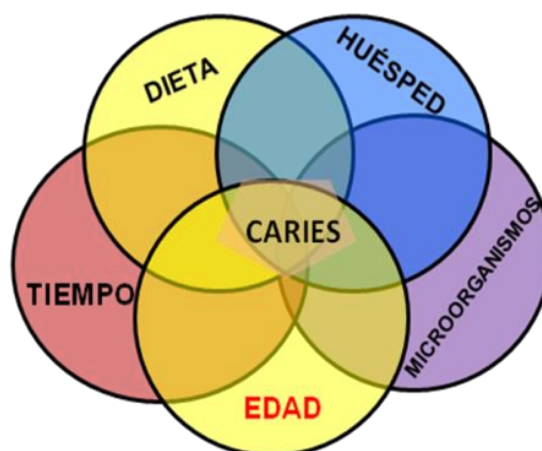


**Figura 7.** Esquema clásico, propuesto por Keyes (1960) para explicar cómo se instaura la enfermedad: Tríada etiológica de Keyes.



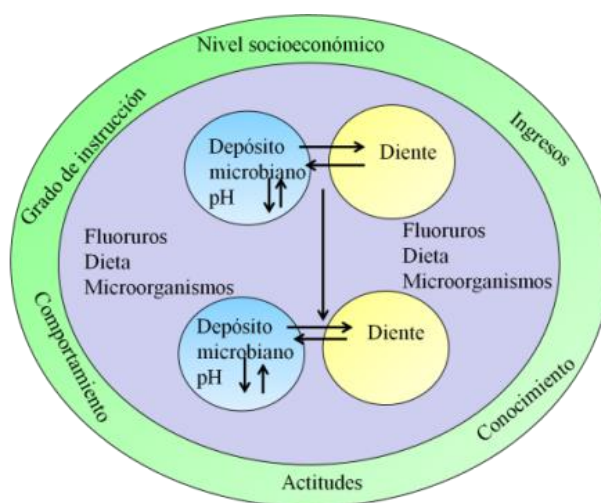
**Figura 8.** Modelo de Keyes modificado por Newbrun (1978). Factores etiológicos de la caries dental y medidas preventiva para cada uno de los factores etiológicos.

Así se instala el concepto de que el proceso de caries dental, se fundamenta en las características e interrelaciones de los llamados factores de riesgo básicos, principales o primarios: dieta, huésped, microbiota y tiempo, cuya interacción se considera indispensable para vencer los mecanismos de defensa del esmalte y consecuentemente para que se provoque la enfermedad. Asimismo, en 1981 Miles, documenta que la **edad** es otro factor importante a tener en cuenta en la etiología de la caries dental y en 1990, Uribe-Echeverria y Priotto, basándose en esa evidencia, propusieron la llamada “gráfica pentagonal”; en la cual incorporan a la triada de Keyes modificada por Newbrum, el factor edad (figura 9) (57).



**Figura 9.** Gráfica que representa “pentafactorial, documentada por Uribe-Echevarria y Priotto en 1990

En las últimas décadas estos modelos básicos o primarios, han sido cuestionados. Situación que dio origen a otras corrientes de investigación más integradoras, donde se considera la intervención de otros factores (los determinantes de salud) como salud general, experiencia pasada de caries, grupo epidemiológico, cultura, nivel socioeconómico, variables de comportamiento, es decir que también se toman en cuenta los factores que se encuentran fuera de la cavidad bucal llamados factores moduladores (figura 10). No obstante, no todos intervienen forzosamente en la generalidad de los individuos que contraen caries dental, sino que su presencia varía, favorable o desfavorablemente, de modo determinante de individuo a individuo. Surge así un nuevo paradigma, propuesto por Fejerskov, que define la lesión cariosa como “*un mecanismo dinámico de desmineralización y remineralización*” como resultado del metabolismo de la microbiota agregada sobre la superficie dentaria, en la cual con el tiempo, puede resultar una pérdida neta de mineral y es posible que posteriormente se forme una cavidad (58).



**Figura 10.** Esquema de la multifactorialidad etiológica de la caries. (Adaptado de Baelum y Fejerskov, 2003).



Actualmente las piedras angulares de la gestión moderna de la caries dental son la prevención y el manejo basado en riesgos.

El concepto de riesgo implica contingencia o proximidad de un daño; es decir la probabilidad de que ocurra un fenómeno o daño. En salud el riesgo puede ser definido como la probabilidad de que los miembros de una población definida, desarrollen la enfermedad en un período de tiempo (59).

Con respecto al riesgo de caries nos referimos a la probabilidad que presenta un individuo en un determinado momento, de desarrollar nuevas lesiones de caries dental o que lesiones preexistentes progresen (60).

Junto al concepto de riesgo se emplean términos como factores, indicadores y predictores de riesgo de caries dental. Un **factor de riesgo** de caries dental es cualquier característica o circunstancia detectable en un individuo, que se sabe asociada a un aumento en la probabilidad de padecer o desarrollar lesiones de caries; puede ser medioambiental, conductual o biológico y, de estar presente, incrementa la posibilidad de que ocurra la enfermedad. Los factores de riesgo tienen por lo tanto, una participación fundamental en la etiología y en la progresión de la enfermedad.

Por otra parte, cuando nos referimos a **indicadores de riesgo** decimos que son aquellos factores acerca de los cuales se ha demostrado, que de manera significativa se encuentran asociados con la aparición de determinada enfermedad (88). Son indicadores de riesgo: nivel socioeconómico (desprotegidos sociales, bajo nivel de estudios, bajo recursos económicos) los vinculados con la salud general (enfermedades, incapacidades) y los epidemiológicos (vivir en una región o país con gran prevalencia a caries dental). Como constituyen una probabilidad medible, tienen valor predictivo y pueden usarse con ventajas tanto en prevención individual, como en los grupos y/o en la comunidad. Un **predictor de riesgo** (marcador de riesgo) por lo general son factores biológicos, que están asociados con un elevado riesgo de enfermar, pero no forma parte de la cadena causal, como lo es la ausencia de elementos dentarios, presencia clínica de biopelícula dental, porcentaje de la microbiota con significación etiológica entre otros (58, 59). Se ha determinado que el mejor predictor del futuro, en lo que respecta al incremento de caries dental, es la experiencia pasada de caries (CPO/ceo) (61).

### **Factores de riesgo de la caries dental**

Los factores de riesgo de caries no actúan aisladamente, sino que lo hacen en conjunto, interrelacionadamente, por lo que con frecuencia fortalecen en gran medida su nocivo efecto para la salud. Existen estudios sobre la acción combinada de los factores de riesgo, los cuales muestran que, su acción conjunta siempre es mayor que la simple suma aritmética de los riesgos relativos, por lo tanto, la evaluación de un factor de riesgo será científicamente más aceptable, si se consideran no solo sus efectos directos y aislados, sino también sus efectos conjuntos con otras variables de interés. La evaluación del riesgo de caries involucra un análisis de la probabilidad de que haya un cambio en el número (incidencia), severidad, y / o actividad de las lesiones de caries (62, 63, 64, 65).

### ***Microbiota dental***

La complejidad de la enfermedad de caries se debe a los múltiples factores, que están asociados con la evolución de una población bacteriana, que pasa de una biopelícula saludable a otra patológica. Una biopelícula bucal sana puede estar formada por más de 700 especies bacterianas, de las cuales menos del 1% son bacterias potencialmente patogénicas, que actuarán como defensa de primera línea para ayudar a proteger la cavidad bucal de diferentes infecciones (66, 67).

Cambios en el medio dentro de la biopelícula bucal, hacen que se favorezca la proliferación de especies patogénicas acidúricas y acidogénicas. El concepto actual de caries dental contempla que varios microorganismos se incluyen en su patogénesis (*Streptococcus* del grupo *mutans*, *Lactobacillus* spp y *Actinomyces* spp) de los cuales el *Streptococcus mutans* es el agente más importante (68, 69, 70).

Una de las medidas epidemiológicas utilizada para medir la presencia o ausencia de biopelícula bacteriana sobre las superficies dentarias, es el índice de Higiene Oral simplificado creado por Greene y Vermillion (IHO-S), por sus siglas en inglés oral hygiene index simplified (71).

### ***Dieta***

Son muchos los estudios epidemiológicos que correlacionan el consumo de azúcar con la prevalencia de caries dental, demostrando con ellos una clara asociación entre frecuencia de consumo, características de los alimentos y el desarrollo de caries dental (72, 73).

Con respecto a las características de los alimentos que pueden influir en el potencial cariogénico podemos considerar características físicas de adhesión, (pegajosos o adhesivos y no pegajosos o no adhesivos). La adhesión de los alimentos se define como la fuerza con la cual los mismos se sostienen contra los elementos dentarios. Entre ellos se consideran los hidratos de carbono del grupo de los polisacáridos como el almidón, que contienen sacarosa (tortas, galletas, papas, fritos, caramelos masticables, jugos, arroz); estos alimentos tienen gran poder cariogénico porque permanecen más tiempo en contacto con las superficies de los elementos dentarios. Entre los alimentos no adhesivos, se encuentran aquellos considerados como protectores (queso, maní, pescado, cereales entre otros.)

La frecuencia de la ingesta de alimentos cariogénicos sobre todo entre comidas, tiene una fuerte relación con el riesgo de caries dental, pues favorece cambios en el pH y alarga el tiempo de aclaramiento o depuración bucal lo que incrementa la probabilidad de desmineralización del esmalte (74). El riesgo de desarrollar caries dental es mayor si los azúcares son consumidos muy frecuentemente, y están en una forma de presentación tal que es más lenta su eliminación de la cavidad bucal (75). La sacarosa es el azúcar más cariogénico, ya que puede formar glucano, una sustancia que permite una mayor adherencia bacteriana a los dientes y condiciona la difusión de los ácidos y los buffers en la biopelícula, además es utilizado por el *Streptococcus mutans* para producir glucanos (76).

### ***Saliva***

Como factor influyente de la caries dental, la saliva es un fluido que se origina en las glándulas salivales mayores y menores, el cual se produce de manera constante, permitiendo una acción limpiadora sobre las superficies de los tejidos duros y blandos de la cavidad bucal.

La saliva posee una capacidad amortiguadora y neutralizadora de los ácidos producidos por los organismos cariogénicos o ingeridos a través de la dieta, permitiéndole mantener

un pH relativamente constante. Es también una fuente constante de calcio y fosfato, necesarios para la remineralización del esmalte. Hay muchos estudios que han demostrado que en cavidades bucales que presentan caries dental y enfermedad periodontal el pH de la saliva es ácido.

La tasa de flujo salival, es uno de los puntos más importantes para determinar el riesgo de caries dental. Una tasa de flujo salival adecuada, es esencial para que la salud bucal se mantenga, pero este equilibrio puede interrumpirse al alterarse el balance entre el huésped y la microbiota, dando lugar al crecimiento excesivo de las bacterias (77).

La saliva es un fluido extraordinariamente complejo, con una gran cantidad de propiedades y funciones que son indispensables, tanto para la salud general como para la bucal, como la lubricación, la humectación, el sabor, la digestión, la protección de la mucosa bucal y dental y la protección del esófago (78, 79).

El pH salival, por su parte, crea condiciones ecológicas bucales que mantienen el equilibrio medioambiental, previniendo la aparición de patologías como la caries dental. Existe una relación reportada entre el flujo salival y el pH de la saliva debido a las variaciones en las concentraciones de bicarbonato y fosfato, asociadas con los cambios volumétricos. De esta forma, se puede contemplar que alteraciones del flujo salival repercutieran en el pH, de existir una funcional entre los receptores articulares y los que regulan el flujo de saliva a nivel glandular (80).

En la saliva existe un mecanismo buffers que intenta mantener el pH entre el 7 y 7,4, este mecanismo en determinadas circunstancias se ve alterado, principalmente por la ingesta desproporcionada de alimentos o bebidas con pH ácido, higiene bucal deficiente, poco control de la placa bacteriana, la presencia de poli caries, enfermedad periodontal, etc. (81).

La curva de Stephan ha desempeñado un papel dominante en la investigación de caries en las últimas décadas. Lo que es notable de la curva de Stephan es la cantidad de interacciones que ilustra y, sin embargo, la producción de ácido sigue siendo el enfoque dominante.

Usando tecnología sofisticada, es posible medir los cambios de pH en la placa bacteriana; sin embargo, estas observaciones pueden tener un falso sentido de exactitud. Observaciones recientes han demostrado, que puede haber múltiples valores de pH dentro de la matriz de la placa, lo que enfatiza la importancia del medio dentro del cual se forma el ácido (82).

La capacidad tampón de la saliva es un factor importante, que influye en el pH y en el proceso de remineralización dental, siendo la mezcla de bicarbonato su principal componente; se relaciona con el flujo salival, ya que cualquier circunstancia que disminuya el flujo de la saliva, tiende a disminuir su capacidad tampón e incrementa el riesgo de caries, presentando un significativo rol en la preservación y manutención de la salud bucal (83).

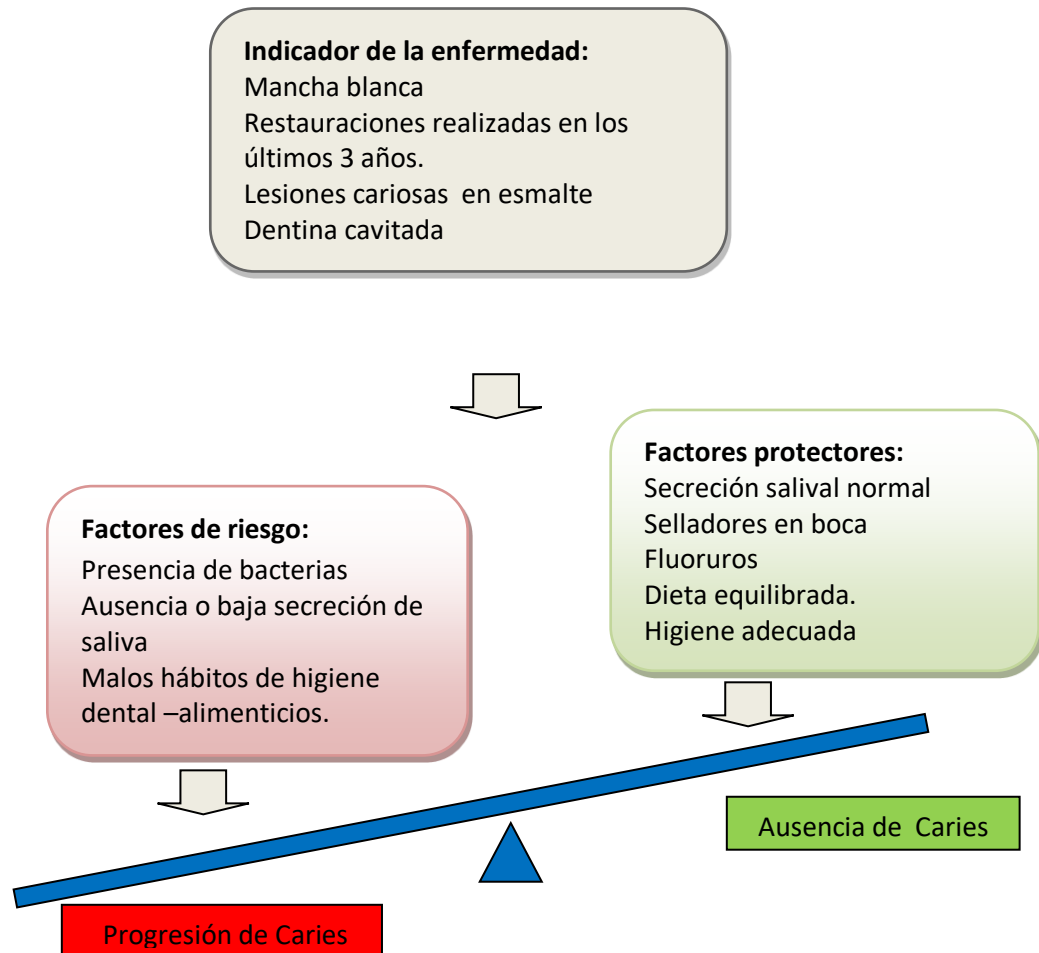
La capacidad de crecer y producir ácidos a bajos niveles de pH es sumamente importante para que un microorganismo pueda desarrollar caries dental.

El pH en el cual los tejidos dentales se disuelven está entre 5.3 y 5.7 a nivel adamantino y de 6.5 a 6.7 a nivel dentinario (84, 85).

Algunos microorganismos tales como los *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp., alcanzan un excelente crecimiento a niveles de pH más bajos que otras bacterias de la biopelícula dental, y con un pH final menor al nivel crítico (86).

El inicio de la enfermedad de caries dental está principalmente asociado, a una acción dieto-bacteriana que conduce a un proceso dinámico de desmineralización y remineralización (DES-RE) (figura 11), como resultado de la colonización y producción de ácidos orgánicos por parte de *Streptococcus mutans* y *Lactobacilos* spp. Esta microbiota presente en la biopelícula dental, son los principales agentes patógenos relacionados con el inicio y desarrollo de las lesiones de caries dental, respectivamente (87).

### Equilibrio-desequilibrio de la caries dental



**Figura11.** Esquema que representa el concepto de indicadores de la caries y el equilibrio-desequilibrio entre los factores de riesgo y los factores protectores. Propuesto por el enfoque Caries Management by Risk Assessment.

La MNE es un problema clínico y estético que puede coexistir con la caries dental, por lo tanto consideramos importante conocer la posible relación entre la MNE y la actividad de caries para poder tomar decisiones clínicas adecuadas en los pacientes que las presentan.

**Teniendo en cuenta lo anteriormente mencionado es que se plantea la siguiente hipótesis de trabajo.**

## **HIPÓTESIS**

---

- La mancha negra extrínseca sobre esmalte dentario actuaría como un factor de protección de la caries dental.

## **OBJETIVOS**

---



## **OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar relaciones entre la presencia de mancha negra extrínseca y la caries dental en niños y adolescentes de una población de la ciudad de Córdoba.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar relaciones entre los factores de riesgo correspondiente a hábitos de cepillado bucal diario, frecuencia de consumo y características de los alimentos (adhesivos o no adhesivos) en pacientes niños o adolescentes con y sin mancha negra extrínseca.
- Estudiar relaciones entre parámetros salivales (flujo, pH, concentración de calcio y fosfato) y microbiota de la biopelícula dental en pacientes niños o adolescentes con y sin mancha negra extrínseca.
- Establecer relaciones entre factores de riesgo cariogénicos referidos a hábitos de cepillado diario, frecuencia de consumo y características de los alimentos (adhesivos o no adhesivos), parámetros salivales (flujo, pH, concentración de calcio y fosfato) y microbiota de la biopelícula dental y presencia de mancha negra extrínseca.

## **MATERIALES Y METODOS**

---

Este trabajo se realizó sobre una muestra de pacientes (n=184) de ambos sexos, con edades comprendidas entre 3 y 15 años, con dentición primaria, mixta y permanente, que concurrió a la Cátedra Odontopediatría “A”, de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba, en el período 2014-2017.

Se conformaron dos grupos de estudio:

- a) **Grupo problema** (n=28): niños y adolescentes con MNE sobre el esmalte dental.
- b) **Grupo control** (n=156): niños y adolescentes sin MNE sobre el esmalte dental.

Fueron excluidos del estudio pacientes que estuvieran bajo tratamiento farmacológico de cualquier tipo y/o que hubieran tomado antibióticos por 10 días anteriores a la toma de muestra.

Cada paciente menor de edad y el responsable mayor que acompañó al mismo, firmaron consentimiento y asentimiento informado respectivamente (figura 12, 13) (anexo 1, 2).

El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba (Nº: 1378).



**Figura 12.** Firma del consentimiento informado por parte del tutor. **Figura 13.** Firma del asentimiento informado por parte de la niña

### VARIABLES ESTUDIADAS

Variable	Categoría	Criterio de corte
<b>MNE</b>	0: ausencia 1: presencia	<i>Ausencia o presencia de la tinción en forma de:</i> punto pigmentado, en finas líneas de coalescencia incompleta o completa o de mancha que se extiende más allá del tercio cervical del elemento dentario. (Según criterio de Gasparetto et al 2003) (50).
<b>Género</b>	0: masculino 1: femenino	Según sexo biológico.
<b>Dentición</b>	1: primaria 2: mixta 3: permanente	Por examen bucal, considerando: <i>Dentición primaria:</i> presencia solo dientes primarios. <i>Dentición mixta:</i> presencia en la arcada dentaria dentición primaria y dentición permanentes. <i>Dentición permanente:</i> presencia solo de dientes permanentes.
<b>Consumos de hidratos de carbono</b>	0: menos de cuatro momentos de consumo de carbohidratos diario. 1: más de cuatro momentos de consumo de carbohidratos diario.	Por anamnesis. Según criterio modificado de Bordoni et al 2010 (88).
<b>Características de alimentos consumidos</b>	0: no pegajosos 1: pegajosos	Por anamnesis. Según criterio Bordoni et al 2010 (88).
<b>Frecuencia diaria de cepillado dental</b>	0: 1 vez por día o menos 1: más de una vez al día.	Por anamnesis. Según criterio modificado de Bordoni et al 2010 (88).
<b>Índice de Higiene bucal (IHO-S)</b>	0: Buena 1: Deficiente	Buena: 0 a 1.7 Deficiente: 1.8 a 3 Según criterio modificado del índice de higiene oral simplificado (IHO-S)

<b>Índice de caries dental</b>	CPOD (diente cariado, perdido, obturado) Ceod (diente cariado, indicado para extracción, obturado)	Según criterios diagnósticos de la OMS (54).
<b>Flujo salival</b>	0: adecuado: $\geq 1-2$ mL/min estimulada. 1: insuficiente: $< 0,7$ mL/min de saliva estimulada.	Según criterio modificado de Bordoni et al 2010 (88).
<b>pH salival</b>	0: ácido: $\text{pH} < 6$ . 1: neutro $\text{pH} \geq 7$ .	Según criterio modificado de Bordoni et al 2010 (88).
<b>Concentración de calcio salival</b>	Promedio de calcio (mgr%) en saliva estimulada	Según criterio de Mina et al 2008 (89).
<b>Concentración de fosfato salival</b>	Promedio de fosfato (mgr%) en saliva estimulada	Según criterio de Mina et al 2008 (89).
<b>Cantidad de <i>S. mutans</i> en biopelícula bacteriana</b>	0: bajo: $< 10^6$ UFC 1: alto: $> 10^6$ UFC	Según criterio de Bordoni et al 2010 (89).
<b>Cantidad de lactobacilos en biopelícula bacteriana</b>	0: bajo: $< 10^5$ UFC 1: alto $> 10^5$ UFC	Según criterio de Bordoni et al 2010 (88).

## RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

### Confección de historia clínica

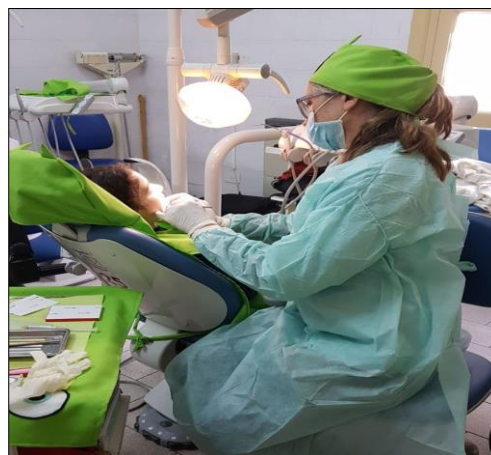
A cada paciente se le completó una historia clínica (anexo 3). Los antecedentes de la misma se obtuvieron por medio de anamnesis indirecta y estuvieron referidos a: datos personales (edad, sexo), filiatorios y demográficos, enfermedades actuales, antecedentes personales patológicos, antecedentes personales no patológicos, antecedentes heredo-familiares patológicos.

También se indago sobre frecuencia de cepillado dental diario, características de los alimentos consumidos (pegajosos o adhesivos- no pegajosos o adhesivos) frecuencia diaria de consumo de hidratos de carbono.

Posteriormente a cada paciente se le realizó examen intrabucal, con instrumental de exploración, con el campo seco, bien iluminado y el paciente posicionado ergonómicamente en el sillón dental (figura 14, 15).

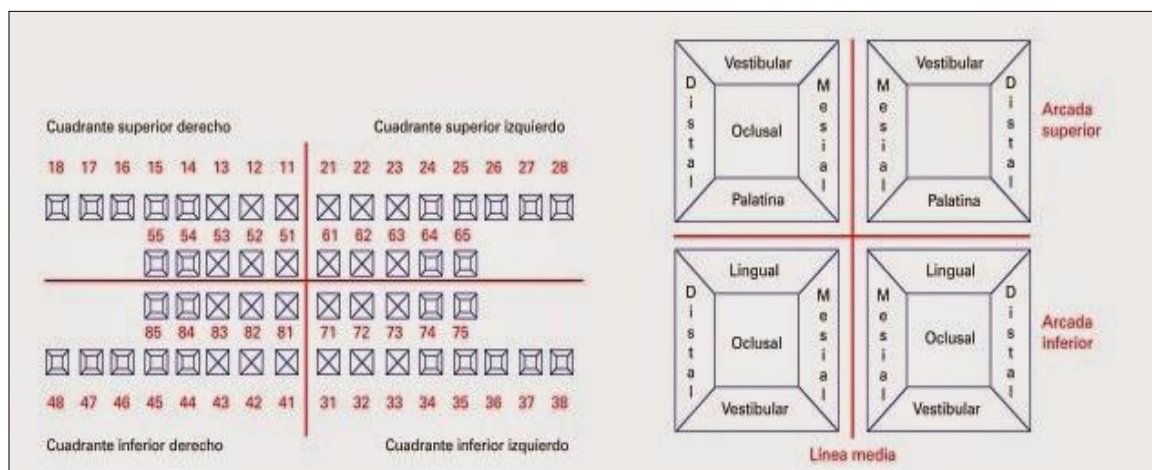


**Figura 14.** Examen bucal del paciente.  
ergonómicamente



**Figura 15.** Paciente sentado

Posteriormente en la historia clínica se completó el odontograma y con él se registró tipo de dentición, (primaria, mixta y/o permanente), y luego se obtuvo el índice de caries dental, ceop (cariados, indicado para extracción y obturados) para dentición primaria y CPOD (cariados, perdido y obturados) para dentición permanente, (figura16).



**Figura 16.** Odontograma.

También se analizó la higiene bucal, utilizando el índice de higiene oral simplificado, (IHO-S), de acuerdo al criterio de Greene y Vermillion (70) el protocolo seguido fue:

a) Tinción de los elementos dentarios con revelador de placa bacteriana doble tono (Testplac, Tedequim SRL. Córdoba, Argentina) (figura 17 y 18); b) posteriormente se examinaron seis sectores de las superficies dentarias: tres en las caras vestibulares de los elementos superiores, una anterior y dos posteriores (uno del lado derecho y otro del lado izquierdo) y tres en las caras linguales, una anterior y dos posteriores (una del lado derecho y otra del lado izquierdo) respectivamente.



**Figura 17.** Tinción con revelador de placa paciente sin MNE.



**Figura 18.** Tinción en paciente con MNE.

De cada sector se seleccionó el elemento más representativo, es decir el que presentaba mayor cantidad de biopelícula bacteriana en su superficie.

La escala utilizada para evaluar presencia de placa bacteriana es la siguiente:

- 0: sin placa bacteriana sobre la superficie dentaria
- 1: placa bacteriana que cubre menos de 1/3 de la superficie dentaria
- 2: placa bacteriana que cubre más de 1/3 de la superficie dentaria
- 3: placa bacteriana que en más de 2/3 de la superficie dentaria.

### Registro de localización y extensión de la MNE

A los pacientes que presentaron MNE, se les registró: *localización y extensión* de la misma en una ficha gráfica especial que se anexó a la Historia Clínica (anexo 4).

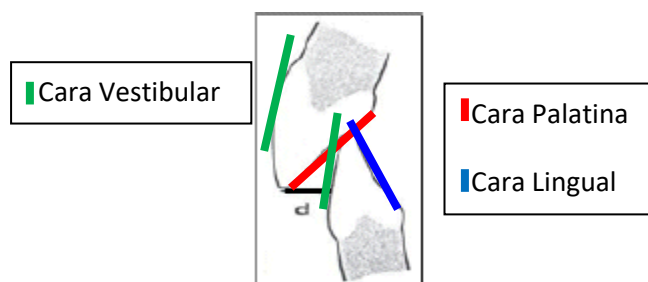
Para determinar la *localización* de la MNE se consideró tres caras del elemento dentario con MNE:

- las caras vestibulares de las dos arcadas (superior e inferior)
- las caras palatinas de los elementos superiores
- las caras linguales de los elementos inferiores (figura 19).

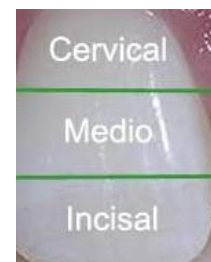
A cada una de las caras, se las dividió en tres tercios: tercio gingival o cervical, tercio medio y tercio incisal (figura 20).

En la planilla no fueron consideradas las caras proximales de los elementos dentarios (mesiales y distales), porque en las zonas de contacto interproximal no fue factible obtener datos confiables.

Las caras oclusales tampoco se tomaron en cuenta, ya que no hay registro de MNE en estas caras.



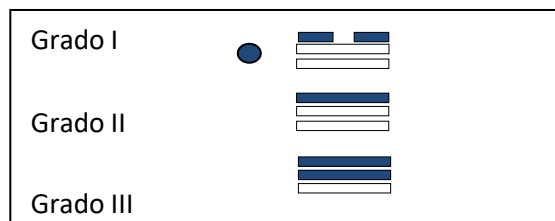
**Figura 19.** Caras del elemento de registro de MNE.



**Figura 20.** Tercios considerados en cada elemento.



Para considerar la *extensión de la MNE* se tomó el criterio de Gasparetto et al 2003(49),(figura 21).



**Figura 21.**-Grados de clasificación de la MNE, modificado de Gasparetto et al 2005. Grado I: Cuando la tinción se presenta en forma de punto pigmentado o en finas líneas de coalescencia incompleta, pudiendo localizarse en el tercio cervical, medio y/o incisal del elemento dentario; Grado II: Cuando la tinción se presenta en forma de línea de coalescencia completa, pudiendo localizarse hasta la mitad del tercio cervical del elemento dentario; Grado III: Cuando la tinción se presenta en forma de mancha que se extiende más allá del tercio cervical del elemento dentario.

### Registro de frecuencia de la MNE

A los pacientes con MNE, se les registro además la *frecuencia* de su aparición, es decir el número de veces que aparece la MNE en cada elemento dentario de cada uno de los pacientes en la población estudiada. A los fines de hacer más claro los registros se consideraron por separado dentición primaria y permanente.

### Toma de muestras de saliva estimulada

A los pacientes control y con MNE se les tomaron además muestras de saliva estimulada, utilizando el siguiente protocolo: a) se motivó al paciente explicándole los procedimientos a seguir; b) luego se les pidió que masticaran una pastilla de cera de parafina durante 5 minutos, la que fue recolectada en tubos de polietileno calibrados (Corning™ Tubos, Thermo Fisher Scientific, USA) y con ello se calculó el flujo salival del paciente expresado en mL/min (figura 22, 23).

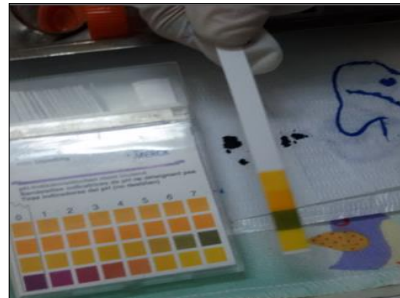
Además se midió el pH utilizando las tiras indicadoras de pH (MColorpHast™ Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). Para ello después de medir el flujo salival, se procedió al retiro de un poco de saliva del tubo de polietileno con una pipeta, y se la colocó en un vaso dappen estéril para medir su pH, se retiraron las tiras de pruebas del envase con una pinza de algodón estéril, y se humectaron por 3 minutos en vaso con saliva, luego se la retiró y comparó el color del campo activo con el muestrario de colores, de ese modo se determinó la capacidad amortiguadora de la saliva (figura 24).



**Figura 22.** Paciente recolectando saliva.



**Figura 23:** saliva recolectada en tubo de polietileno.



**Figura 24:** tiras indicadoras de pH

Las muestras de saliva se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante se conservó a  $-20^{\circ}\text{C}$ , hasta el momento de realizar los ensayos bioquímicos. Los estudios fueron realizados en el Área de Biología de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba.

Los ensayos bioquímicos que se realizaron con las muestras de saliva fueron: determinación por método colorimétrico de la concentración de calcio y fosfato, utilizando en ambos casos un kit de medición correspondiente (Kit de Wiener.lab, Rosario – Argentina) siguiendo las indicaciones del fabricante.

### **Toma de muestras de biofilm dental**

Por otra parte, a todos los pacientes se les tomaron muestras de biopelícula dental. Las mismas fueron extraídas de la cara vestibular de segundo molar primario o primer molar permanente respectivamente según la dentición presente en la cavidad bucal, el material se recolectó de la zona supragingival, utilizando curetas estériles (figura 25, 26).



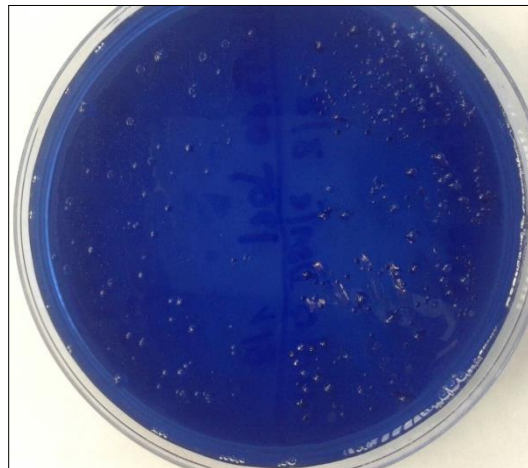
**Figura 25.** Toma de biopelícula a la paciente.



**Figura 26.** Colocación del material sobre un hisopo.

El material fue colocado en medio de transporte Cari Blair (Laboratorio Britania, S.A, Buenos Aires, Argentina); las muestras fueron transportadas al laboratorio de Microbiología de la Carrera de Tecnicatura de Laboratorio Clínico e Histopatología, de la Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, para realizar los cultivos para el estudio de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp.

- Para el cultivo de *Streptococcus mutans*: se utilizó medio de cultivo Agar Mitis Salivarius (DIFCO, DQ Microbiología Laboratorios S. A. DE C. V., México) con el agregado de 0.281 mg/mL de Bacitracina (ICN Biomedicals, 71% de actividad) y se incubó a 37°C en microaerofilia durante 48 hs, en estufa Pasteur (figura 27).



**Figura 27.** Colonias de *Streptococcus mutans* en medio de cultivo Agar mitis salivarius con bacitracina.

- Para el cultivo de *Lactobacillus* spp: se utilizó medio de cultivo Agar Rogosa (Merck, KGaA, Darmstadt, Alemania) en cápsulas de Petri las cuales luego fueron colocadas en jarras de anaerobiosis (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francia) que contenían sobres que consumían oxígeno (GENbox- bioMérieux Marcy-l'Étoile, Francia), un

indicador de anaerobiosis de Azul de Metileno (AnaerIndicator-bioMerieuxMarcy-l'Étoile, Francia) e incubadas a 37° C al menos 48 hs, en estufa Pasteur (figura 28).



**Figura 28:** Colonias de *Lactobacillus* spp, en medio de cultivo Agar Rogosa.

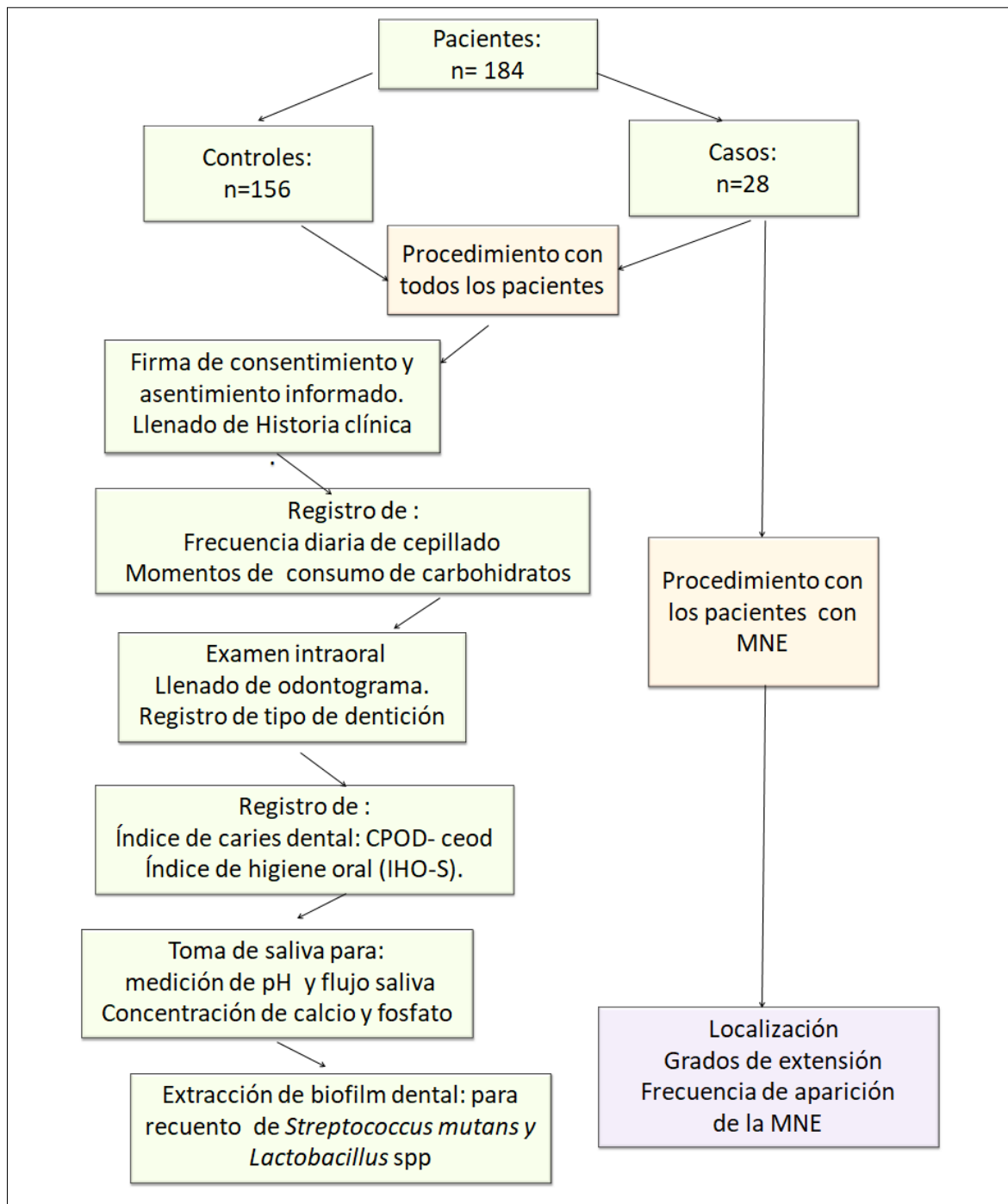
### **Análisis estadístico de los datos**

El análisis de los datos se realizó con el programa Infostat versión 2018 (91). Las variables cualitativas se describieron mediante sus frecuencias absolutas y relativas en porcentajes; las variables cuantitativas se describieron por su media/mediana, desvío estándar.

La asociación entre las variables se realizó mediante la Prueba de Fisher mientras que las diferencias entre los parámetros de centralización se realizaron mediante la Prueba de Wilcoxon (prueba no paramétrica; se probó mediante QQplot la falta de normalidad en los datos). Se realizó una regresión logística para valorar la fuerza de asociación del riesgo cariogénico con respecto a la presencia o no de MNE. Para todas las pruebas se fijó un pvalor < 0.05 para significación estadística.

Para explorar las asociaciones entre las variables cualitativas se realizó un Análisis de Correspondencia Múltiple.

## **DISEÑO METODOLOGICO**



## **RESULTADOS**

---

**Sexo, edad y tipo de dentición**

En el grupo problema el 50% de los pacientes fue de sexo femenino y el 50% masculino; sus edades estuvieron comprendidas entre los 3 y 14 años; la dentición primaria en un (18%) y la mixta (75%) fueron las prevalentes en este grupo. En el grupo control el 47% de los pacientes fue de sexo femenino y el 53% de sexo masculino: las edades estuvieron comprendidas entre los 3 y 15 años; la dentición primaria (15%) y la mixta (80%) fueron las prevalentes en este grupo de estudio.

No se encontró asociación significativa ( $p=0.2181$ ) entre sexo, edad y tipos de dentición entre los grupos estudiados.

La prevalencia de MNE fue del 1,78% (tabla 1).

**Tabla 1:** Pacientes con MNE y sin MNE atendidos por cada año en que se realizó el estudio.

Año	Paciente controles (FA/FR %)	Pacientes con MNE (FA/FR (%))
2014 n=408	403 (98.77)	5 (1.23)
2015 n=402	395 (98,26)	7 (1,74)
2016 n=379	373 (98,42)	6 (1,58)
2017 n=380	370 (97.37)	10 (2.63)
Total n=1569	1541 (98.22)	28 (1.78)

En cuanto a la **frecuencia diaria de cepillado dental** no hubo diferencia significativa entre ambos grupos de estudio (tabla 2).

**Tabla 2.** Frecuencia de cepillado dental. FA. Frecuencia absoluta; FR: frecuencia relativa.

	Frecuencia de cepillado FA/FR (%)	
	Una vez al día o menos	Dos o más veces al día
Pacientes con MNE (n= 28)	20 (72)	8 (28)
Pacientes control (n= 156)	112 (72)	44 (28)
p valor = <b>0.9684</b>		

Los resultados mostraron que no hay asociación significativas entre los pacientes con y sin MNE, con respecto a la **frecuencia de consumo de carbohidratos** y tampoco con relación a la **característica de alimentos consumidos** adhesivos o no adhesivos (tabla 3).

**Tabla 3.** Frecuencia de consumo y características de los alimentos. *FA. Frecuencia absoluta; FR: frecuencia relativa.*

	Frecuencia de consumo de carbohidratos		Características de los alimentos	
	> de 4 de momentos de consumo diario de carbohidratos FA/FR (%)	< de 4 momentos de consumo diario de carbohidratos FA/FR (%)	Adhesivo FA/FR (%)	no adhesivo FA/FR (%)
Pacientes con MNE (n= 28)	20 (72)	8 (28)	20 (72)	8 (28)
Pacientes control (n= 156)	108 (69)	48 (31)	100 (64)	56 (36)
p- valor	<b>p=0.8160</b>		<b>p=0.4536</b>	

No se observaron asociación significativa en el IHO-S entre pacientes con MNE y paciente sin MNE (tabla 4).

**Tabla 4.** Índice de Higiene Oral Simplificado (IHOS), en pacientes con mancha negra extrínseca y pacientes control. *FA. Frecuencia absoluta; FR: frecuencia relativa; MNE: mancha negra extrínseca.*

IHO-S FA/FR (%)		
	Pacientes control n= 156	Pacientes con MNE n= 28
Higiene buena	79 (51)	13 (46)
Higiene deficiente	77 (49)	15 (54)
p=0.7207		



Entre ambos grupo de estudio hubo una notoria diferencia significativa con respecto al **índice de caries dental** de la dentición primaria. Los pacientes con MNE presentaron un índice mucho menor (tabla 5).

**Tabla 5:** Índice de Caries Dental. **ceod:** (diente cariado, extracción indicada, obturado) para dentición primaria; **CPOD** (diente cariado, perdido y obturado) para dentición permanente.

Variables	Control			MNE			p-valor Wilcoxon
	Media	DE	Mediana	Media	DE	Mediana	
C	4.95	3.39	5	0.57	1.17	0	<b>0.0001</b>
E	0.76	1.67	0	0.11	0.42	0	0.0315
O	0.23	1.07	0	0	0	0	0.1224
C	0.3	0.93	0	0.04	0.19	0	0.2315
P	0	0	0	0	0	0	0.2315
O	0	0	0	0.07	0.38	0	0.104

*p- valor <0.05 indica significación estadística.*

En cuanto a la **extensión** de la MNE, tanto en la dentición primaria como en la permanente se observaron grado I y II.

En relación a la **localización** de la MNE, en la dentición primaria, las mismas estuvieron presentes en las caras vestibulares, superiores e inferiores, en las caras palatinas y en las linguales. En dentición permanente se observó MNE en las caras palatinas de los elementos 12, 11, 21 y 22 y en las caras linguales de los elementos 42, 41, 31 y 32 (anexo 5).

En cuanto a la **frecuencia** de aparición de la MNE en la dentición primaria se presentó con mayor frecuencia el grado I en las superficies vestibulares de los elementos 53 (FA: 6, FR: 19%) y 63 (FA: 7; FR: 17%); el grado II se presentó con mayor frecuencia en las caras vestibulares de los elementos 64 (FA:6; FR14%); 54 (FA: 7; FR 16%), 65 FA: 7; FR 16%), 55 (FA:8; FR 19%).

En tanto que en la dentición permanente el grado I presentó mayor frecuencia en las caras linguales de los elementos 41 (FA. 4; FR 40%) y 31(FA. 4; FR 40%); el grado II se presentó con mayor frecuencia en las caras linguales de los elementos 42, 41, 31 y 32 (en todos FA: 3; FR 25%) (anexo 6).

Los pacientes con MNE presentaron un **flujo salival** normal ( $\geq 1-2$  mL/min) (77%) mientras que los controles presentan en su mayoría (79%), un flujo salival bajo. Hay una asociación significativa ( $p= 0.0001$ ) entre la presencia o no de MNE y la cantidad de flujo salival.

El **pH salival** en todos los pacientes, tanto los de MNE como los controles, fue neutro por lo que no hubo asociación significativa entre ambos grupos ( $p= 0.1254$ ).

**Concentración de calcio:** en relación a este parámetro se encontró una diferencia significativa ( $p=0.0001$ ) entre los valores de los pacientes controles y los pacientes con MNE observándose mayor valor promedio de calcio en saliva de pacientes con MNE.

**Concentración de fosfato:** se encontró una diferencia significativa ( $p=0.0001$ ) entre los valores de los pacientes controles y los pacientes con MNE observándose mayor valor promedio en saliva en pacientes con MNE (tabla 6).

**Tabla 6:** valores de concentración de calcio y fosfato en pacientes con y sin MNE.

	<b>Pacientes control</b> n=156		<b>Pacientes con MNE</b> n= 28		<b>p(2 colas)</b>
	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	
<b>Concentración de calcio</b>	1,99	1,09	3,28	0,56	<b>0,0001</b>
<b>Concentración de fosfato</b>	0,65	0,22	9,01	7,26	<b>0,0001</b>

El análisis de las de UFC/ml tanto de *Streptococcus mutans* como de *Lactobacillus spp*, mostró asociación significativa entre ambos grupos estudiados (tabla 7).

**Tabla 7:** muestra UFC/ml para *Streptococcus mutans* y la UFC/ml para *Lactobacillus spp*. FA. Frecuencia absoluta; FR: frecuencia relativa; MNE: mancha negra extrínseca.

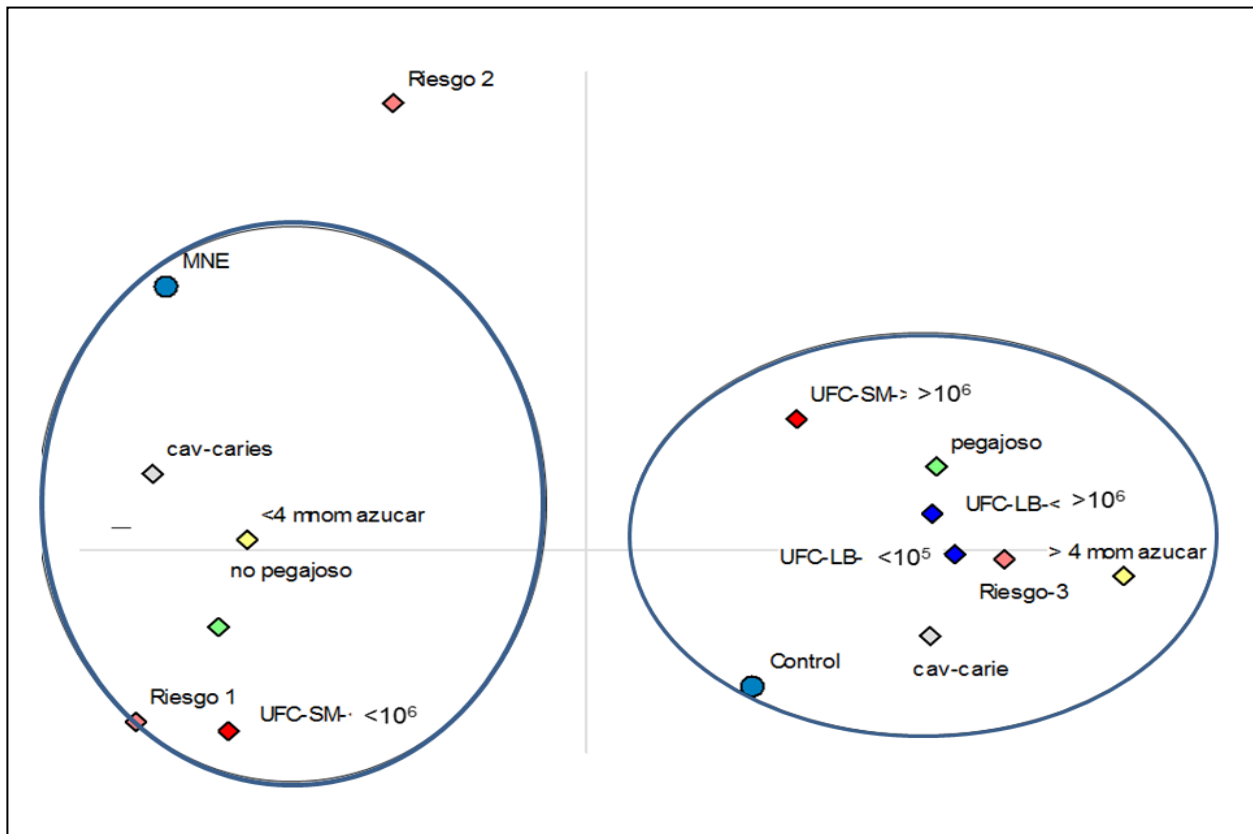
	UFC/mL para <i>Streptococcus mutans</i>		UFC/mL para <i>Lactobacillus spp</i>	
	FA/FR (%)		FA/FR (%)	
	> 10 <sup>6</sup> UFC/ml	< 10 <sup>6</sup> UFC/ml	> 10 <sup>5</sup> UFC/ml	< 10 <sup>5</sup> UFC/ml
<b>Pacientes con MNE</b> (n=28)	7 (25)	21(75)	8 (30)	20(70)
<b>Pacientes control</b> (n=156)	80 (51)	76(49)	123(79)	33(21)
	<b>p= 0.0005</b>		<b>p=0.0003</b>	

El **análisis de correspondencia múltiple** mostró que el riesgo cariogénico bajo (riesgo 1) está relacionado con a la presencia de MNE, con el consumo de azúcares menor a 4 veces diarias, con el consumo de alimentos del tipo “no pegajoso” y con valores < 10<sup>6</sup> de UFC/ml de *S mutans*.

Por otra parte el riesgo alto de caries (riesgo 3) se observa relacionado a la ausencia de MNE, con el consumo de alimentos del tipo “pegajosos”, al consumo de azúcar más de 4 al día y con valores ≥ 10<sup>6</sup> de UFC/ml *S mutans* (figura 29 ).

**Figura 29:** Análisis de Correspondencia Múltiple. Inercia del primer eje 47.65% y del segundo eje 15. 20% (Inercia total de los dos primeros ejes: 62.85%). *Riesgo 1:* Bajo Riesgo Cariogénico, *Riesgo 2:*

Moderado Riesgo Cariogénico; *Riesgo 3:* Alto Riesgo Cariogénico (Según criterio modificado de Bordoni et al) (88); *cav-carie:* carie cavitada; *UFC/ml:* unidad formadora de colonias de *Lactobacillus* spp.; MNE: mancha negra extrínseca; *UFC/ml:* unidad formadora de colonias de *Streptococcus mutans*.



Cuando se evaluó la fuerza de la asociación entre el riesgo cariogénico y la pertenencia a grupo de riesgo, se observó que la probabilidad de tener riesgo alto (riesgo 3) es de 9 veces mayor en los que no tienen MNE, que en los que la presentan (tabla 8).

Parámetros	Estimado	E.E.	O.R.	Intervalo Confianza 95%		p-valor
				LI	LS	
Constante	0.49	0.51	1.64	0.60	4.45	0.3354
riesgo_2,00	-0.27	0.85	0.77	0.14	4.06	0.7547
riesgo_3,00	2.22	1.25	9.25	0.80	106.87	0.0747

**Tabla 8:** Regresión logística. EE: error estándar; OR: odd ratio; LI: límite inferior; LS: límite superior. *P* valor <0,05 indica significación estadística

## **DISCUSIÓN**

---

La caries dental es una de las enfermedades más prevalentes en la cavidad bucal siendo de origen multifactorial. Al determinar el riesgo cariogénico, se hace necesario contemplar tanto los factores de riesgo como los *factores protectores*, y así diseñar un protocolo adecuado de atención para cada paciente.

La MNE es un tipo de coloración presente en los elementos dentarios de pacientes con dentición primaria, mixta y permanente, que se asocia a problemas clínicos y estéticos. Algunos trabajos han relacionado la caries dental con la MNE, sugiriendo que ésta podría estar actuando como un *factor protector* ya que los niños que las presentan suelen tener menor número de caries dental. El propósito de este estudio fue evaluar diferentes factores de riesgo de caries dental, comparando pacientes con y sin MNE sobre las superficies dentarias en niños y adolescentes, para conocer si puede considerarse a la MNE como un *factor protector ante la caries*. Si bien no está claro el mecanismo por el cual la MNE podría tener un efecto protector, considerar que la sola presencia de las mismas reduce el riesgo de presentar caries, constituye un abordaje simplista y unifactorial que no tiene en cuenta el concepto multifactorial de la caries y del proceso de salud-enfermedad.

Este trabajo es, según nuestro conocimiento (a través de toda la bibliografía consultada), el primero realizado en una población con MNE en la ciudad de Córdoba, Argentina, para investigar su potencial *efecto protector* sobre la caries dental ajustado a hábitos alimenticios, hábitos de higiene bucal y factores propios de cada paciente como saliva y número de la microbiota.

En el grupo problema ambos sexos se presentaron en un 50% de los pacientes, sus edades estuvieron comprendidas entre los entre 3 y 14 años. La dentición primaria en un (18%), y la mixta en un (75 %) fueron las prevalentes. No se encontró asociación significativa entre sexo y presencia de MNE. Estos resultados concuerdan con los realizados por Sutcliffe, 1967 (51), Mayta-Tovalino et al 2008 (91) y Xi Chen 2014 (52). En relación al tipo de dentición encontramos similitud al comparar los resultados con los de autores tales como Koch et al 2001 (50) y Martín García 2013 (25).

Consideramos entonces que la MNE no estaría relacionada a un tipo de sexo.

En la literatura no hay consenso en cuanto a la prevalencia de MNE, la misma puede variar entre el 1.55 y el 20%. Leung et al 1950 (48) en Iowa (EEUU) en una población de 355 niños, encontró una prevalencia del 4%; Franco e Issao 1990 (96) mencionaron 2.5% de prevalencia para una población de 118 niños de 3 a 5 años y Camanho Costa et

al 1997(101) sobre 900 niños de escuelas municipales de San Pablo (Brasil), encontraron una prevalencia del 1,81%. En un estudio realizado en Rosario, Argentina, en una población de 433 niños de entre 3 y 10 años, que concurren a la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Rosario, la prevalencia fue del 4.16%. (98). Otros autores hallaron mayor prevalencia: Sutcliffe 1967 (51), 20% en una población de casi mil niños de entre 11 y 13 años; Bastos y Galvan 1992 (100), informaron un 9.3% en niños de 6 a 13 años en una población de 1564 niños estudiados; Koch et al. 2001 (49) 19,9% en 1086 escolares de 6 a 12 años de Potenza Italia y Gasparetto et al. 2003 (50) evaluando a 263 niños de 6 a 12 años de edad vieron que la MNE estuvo presente en un 14.8%. En nuestro estudio, realizado en un período de tiempo de 4 años con 1569 niños y adolescentes, se encontró una prevalencia de MNE del 1.78 %. La variabilidad en la prevalencia observada en varios trabajos podría atribuirse a las diferencias entre estilos de vida y hábitos de las poblaciones estudiadas. La etiología de la MNE aún no está totalmente comprendida por lo tanto consideramos que las diferencias culturales podrían afectar la presencia de las mismas (20).

Ya mencionamos que la enfermedad caries involucra más de un aspecto en su causa: el huésped, el tiempo, la microbiota, la dieta (que sirve de sustrato para el metabolismo de la microbiota) y la edad, además de los factores moduladores (no incluidos en este estudio) (87). Estudios epidemiológicos demuestran una clara asociación entre la frecuencia de consumo de alimentos azucarados, las características de los alimentos consumidos y el desarrollo de caries dental. La frecuencia de ingesta de alimentos cariogénicos sobre todo entre comidas, tiene una fuerte relación con el riesgo de caries, pues favorece cambios en el pH y alarga el tiempo de aclaramiento bucal lo que incrementa la probabilidad de desmineralización del esmalte.

Al analizar la frecuencia de consumo de carbohidratos y las características de los alimentos (pegajosos o no) consumidos por los pacientes, no se encontraron asociación significativas entre los que tenían y no tenían MNE, estos resultados coinciden con el estudio realizado por Martín García (2013) en niños de Oviedo (España) (25).

En este estudio se observó que, con respecto a la frecuencia diaria de cepillado dental, no hubo asociación significativa ( $p=0.9684$ ) entre los pacientes con MNE y sin MNE, resultado que coincide con el realizado por Yanhui Li et al 2016 (24). Autores como Sutcliffe 1967 (51), Yanhui Li et al 2016 (24), Martín García 2013 (25) estudiaron



relación entre índice de higiene bucal y la presencia/ausencia de MNE y no hallaron asociación significativas resultados que coinciden con los de este trabajo.

Sin embargo al analizar el índice de caries, se observó que el grupo de MNE presentó valores menores en el **componente c** (caries en dentición primaria), es decir hubo diferencias significativas ( $p=0,0001$ ) en la cantidad de caries de elementos dentarios primarios entre los dos grupos medidos. El número promedio de caries dental en los elementos primarios fue menor que el promedio de caries en los elementos permanentes.

Investigaciones realizadas en diferentes lugares del mundo, expresan que hay una relación entre la menor cantidad de caries y la presencia de MNE (43) (96) (76). En este sentido, nuestros resultados adhieren al concepto de que la MNE en dentición primaria, estaría asociada a menor frecuencia de caries (97). Por otra parte ha sido demostrado que la cantidad de áreas dentales afectadas por MNE es inversamente proporcional a la probabilidad de desarrollar caries, lo que estaría relacionado a una mayor mineralización de la MNE. Esto implicaría un pH más estable por el alto nivel de calcio y fósforo presentes en las mismas y consecuentemente el aumento de la capacidad tampón y la disolución del esmalte se verían reducidas (108).

En coincidencia con otros estudios (35) hemos podido observar que la MNE es más frecuente en elementos de la dentición primaria.

En cuanto al registro de localización de la MNE, nuestros resultados han revelado su presencia en las caras vestibulares, superiores e inferiores, en las caras palatinas y linguales de todos los elementos dentarios primarios, mientras que en la dentición permanente las mismas se observaron en las caras palatinas de los elementos 12, 11, 21 y 22 y cara lingual en los elementos 42, 41, 31 y 32. La presencia de MNE en todos los elementos primarios podría estar relacionada a la menor cantidad de caries en los mismos.

Otro componente estudiado fue la saliva de los pacientes con y sin MNE. La saliva es una secreción compleja proveniente de las glándulas salivales mayores y menores y su secreción diaria oscila entre 500 y 700 ml, con un volumen medio en la boca de 1,1 ml.

Una de las funciones más importantes de la misma es la lubricación de los tejidos bucales y el barrido de la microbiota y los componentes de la dieta (19, 91). Sin embargo la función protectora de la saliva no se limita a estas acciones ya que se ha observado que tanto las variaciones en la cantidad como en la composición química

pueden alterar considerablemente el estado de salud buco-dental (91), parámetros salivales tales como flujo, pH y concentraciones de calcio y fosfato juegan un rol prioritario en el desarrollo de la caries dental (23).

La saliva influencia en el desarrollo de la caries a través del flujo salival diluyendo los sustratos que sirven para el metabolismo bacteriano como azúcares introducidos en los alimentos (66) y de este modo un flujo salival normal estaría determinando un fuerte efecto protector ante la caries (92). Nuestros grupos de estudio presentaron una asociación significativa entre el flujo salival, el mismo fue bajo en pacientes control y normal en pacientes con MNE. Sin embargo estos resultados no coinciden con los de Garan et al (23) al que observaron un flujo disminuido de saliva en los pacientes con MNE.

En cuanto a la medición de concentración de calcio y fosfato en saliva, se encontró una diferencia significativa ( $p= 0.0001$ ) entre los valores de los pacientes controles y los pacientes con MNE observándose mayor promedio de calcio y fosfato en saliva en los pacientes con MNE.

Se encontró, en este trabajo, mayor concentración de calcio y fosfato en la saliva de los pacientes con MNE. Se conoce que el calcio en saliva aumenta cuando hay menor actividad de caries (102). Se ha sugerido que la tendencia a tener menos caries en niños con MNE podría estar asociada a mayor cantidad de calcio salival y mayor capacidad buffer de la saliva (23). Además el calcio salival indirectamente regula la agregación de los microorganismos en saliva para ayudar a mantener la estructura globular de las micelas salivales. Las micelas están compuestas de proteínas del sistema inmune como IgA secretora, mucinas, amilasa, lactoferrina, lisozimas y proteínas ricas en prolina. En nuestro estudio en los pacientes con MNE el aumento de calcio podría contribuir a formar más micelas como reservorio para la mineralización.

Por otra parte el fosfato en el medio bucal previene la pérdida de fósforo del esmalte debido al efecto de iones. Fosfato, calcio y flúor conjuntamente contribuyen a la remineralización y desmineralización del esmalte. La actividad del sistema fosfato se ve disminuido y compensado por altas concentraciones del sistema bicarbonato/ácido carbónico. La presencia de mayor cantidad de calcio y fosfato en la saliva de los individuos con MNE acrecienta en gran medida la reducción en el índice de caries.

Ese incremento reduce la capacidad del esmalte para disolverse e incrementa la capacidad buffer de la saliva (91).

El pH salival no presentó asociación significativa entre los grupos de estudio, todos los pacientes presentaron pH mayor a 6. Normalmente el pH salival oscila entre 6.7 y 7.5. (103). No se observó correlación con la presencia de caries.

En los parámetros salivales estudiados, con excepción del pH, se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de estudio. Podríamos decir entonces que la saliva sería un factor que favorecería a la menor presencia de caries en el grupo de MNE.

Con respecto a la microbiota encontramos diferencia significativa entre menor cantidad de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp y la presencia de MNE. En la comunidad científica, es bien conocido que las proporciones de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp es elevada en la biopelícula de sujetos con caries siendo el *Streptococcus mutans* el agente más importante asociado a la misma (105, 106, 107).

Diferentes autores (68, 69, 70) señalaron que *S mutans* constituye una alta proporción de la flora cultivable antes y durante el inicio de la lesión de caries, indicaron además que existe una fuerte asociación de esta especie con lesiones avanzadas de caries. Por otro lado, mostraron que el *Lactobacillus* spp sería el responsable de colonizar lesiones cariosas ya formadas, y no durante las primeras etapas de formación de la lesión de caries dental, por lo que se considera a esta especie bacteriana como un oportunista secundario, que está implicado en la progresión de la lesión de caries y que prevalece en las etapas avanzadas de la misma. Entre las especies de *Lactobacillus* aisladas en lesiones de caries dentinaria se distinguen: *L.casei*, *L.paracasei*, *L.rhamnosus*, *L.gasseri*, *L.ultunensis*, *L.salivarius*, *L.crispatus*, *L.fermentum*, *L.panis*, *L.nagelli* *L.delbrueckii* y *L.gallinarum* (97, 98, 99).

Al relacionar todas las variables estudiadas encontramos que la MNE está asociada al riesgo bajo de tener caries dental. Resultados que coincide con diferentes autores como Mayta Tovalino 2008 (93), Zyla et al 2015 (20), Heinrich et al 2009 (95). Theilade et al 1973 (94). Saba 2006 (43) Franco et al 1990 (96). Esto podría relacionarse a la mayor concentración de calcio y fosfato salival ya que, al igual que en la formación del cálculo dental, serían parte de la reacción para la formación de pigmentaciones negras sobre las superficies dentarias, que junto con las condiciones de fluoruros y pH son los principales componentes de la remineralización dental. La caries dental implica un proceso hacia la desmineralización de las superficies dentarias, debido a los ácidos producidos por la microbiota bucal, por lo tanto la presencia de una mayor cantidad de

minerales en la cavidad bucal podría mejorar el proceso de remineralización, manteniendo la cavidad bucal en un equilibrio y reduciendo así el riesgo de desarrollo de caries.

Considerando la variabilidad y heterogeneidad de la microbiota de la cavidad bucal, la menor prevalencia de caries dental, podría estar relacionada a la competencia que se establecería en el ecosistema bucal entre las bacterias presentes en la MNE y las cariogénicas impidiendo la adhesión de éstas a la superficie dental o cambiando las características ecológicas bucales (30).

La MNE es una coloración poco habitual en los niños. Su efecto puede ser negativo en la percepción estética dental causando preocupación en los padres y efectos significativos en la personalidad y en la confianza en sí mismo del niño. Como la experiencia de caries, en nuestro estudio, fue menor en niños con MNE y como la MNE se constituyó como una variable de bajo riesgo cariogénico su efecto podría considerarse como protector ante la caries dental en dentición primaria. Muchos modelos de predicción de caries han implicado caries en dentición primaria como un fuerte predictor de futuras caries en dentición permanente (105). La recomendación para los pacientes que presenten estas coloraciones sobre la superficie de sus elementos dentarios sería retirarlas de las zonas visibles, como son las caras vestibulares de los elementos anterosuperiores e inferiores, y mantenerlas en el resto de los elementos dentarios.

En base a los antecedentes existentes consideramos que nuestro trabajo es representativo de MNE, siendo necesario estudiar muestras más grandes y de diferentes lugares geográficos.

## **CONCLUSIONES**

---

La MNE no es un factor relacionado a un tipo de sexo.

- En la literatura no hay consenso en cuanto a la prevalencia de MNE, ya que la misma puede variar entre el 1,55 y el 20%.
- La MNE se observó en las caras vestibulares, superiores e inferiores, en las caras palatinas y en las linguales de todos los elementos en dentición primaria de los pacientes estudiados
- La MNE en la dentición permanente se observó en las caras palatinas, en elementos 12, 11, 21 y 22 y en las caras linguales en los elementos 42, 41, 31 y 32.
- Los parámetros salivales: flujo salival, concentración de calcio y fosfato presentaron diferencias significativa entre los pacientes controles y con MNE.
- No hubo asociación significativa en el pH salival de pacientes controles y con MNE.
- Se encontró asociación significativa entre la cantidad de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp y la presencia/ausencia de MNE.
- Al estudiar las relaciones entre todas las variables estudiadas, la MNE formó parte del grupo de bajo riesgo cariogénico.
- La recomendación para los pacientes que presenten estas coloraciones sería retirarlas de las zonas visibles, como las caras vestibulares, y mantenerlas en el resto de los elementos dentarios.

## **BIBLIOGRAFÍA**

---

1. KAHASHI N. Oral Microbiome Metabolism: From "Who Are They?" to "What Are They Doing?" *J Dent Res.* 2015; 94(12):1628-37.
2. HE J, LI Y, CAO Y, XUE J, ZHOU X. The oral microbiome diversity and its relation to human diseases. *Folia Microbiol (Praha).* 2015; 60(1):69-80.
3. CRUZ QUINTANA S M, DÍAZ SJOSTROM P, SOCARRÁS D A, GLORIA MARLENE MAZÓN BALDEÓN. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Microbiota. Rev. Cubana Estomatol.* 2017; 54. (1):1-16.
4. KILIAN M, CHAPPLE CIT, HANNIG M, MARSH PD, MEURIC PEDERSEN AML, TONETTI MS, WADE WG, ZAURA E. The oral microbiome: an update for oral health professionals. *BDJ* 2016; 221:657-666.
5. EDLUND A, TASHA M, RODRÍGUEZ S, BOEHM T, PRIDE D. Bacteriophage and their potential roles in the human oral cavity. *J Oral Microbiol.* 2015; 7:27423.
6. LAKSHMAN SAMARANAYAKE, MATSUBARA VH. Normal oral flora and the oral ecosystem. *Dent Clin N Am* 61. 2017; 199-215.
7. YU X, WU X, QIU L, WANG D, GAN M, CHEN X, WEI H, XU F. Analysis of the intestinal microbial community structure of healthy and long-living elderly residents in Gaotian Village of Liuyang City. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2015; 99: 9085–9095.
8. NIKITAKIS NG, PAPAIOANNOU W, SAKKAS LI, KOUSVELARI E. La autoinmunidad- conexión microbiana oral. Published by Wiley & Sons Ltd. 2017; 23 (7): 828-839.
9. ANAYA JM, RAMIREZ-SANTANA C, ALZATE MA, MOLANO-GONZALEZ N, ROJAS-VILLARRAGA A. La ecología autoinmune. *Frontiers in Immunology.* 2016; 7; 139.
10. LEAKE SL, PAGNI M, FALQUET L, TARONI F, GREUB G. The salivary microbiome for differentiating individuals: proof of principle. *Microbes Infect.* 2016; 18 (6):399-405.
11. SIM CP, DASHPER SG, REYNOLDS EC. Oral microbial biofilm models and their application to the testing of anticariogenic agents. *J Dent.* 2016; 50: 1-1.
12. TAKESHITA T, KAGEYAMA S, FURUTA M, TSUBOI H, TAKEUCHI K, SHIBATA Y, ET AL. Bacterial diversity in saliva and oral health-related conditions: the Hisayama Study. *Sci Rep. Journal.* 2016; 6: 22164.



13. GOMEZ A, NELSON KE. The Oral Microbiome of Children: Development, Disease and Implications Beyond Oral Health. *Microb Ecol.* 2017; 73(2): 492–503.
14. XU X, HE J, XUE J, WANG Y, LI K, ZHANG K, et al. Oral cavity contains distinct niches with dynamic microbial communities. *Environ Microbiol.* 2015; 17(3):699710.
15. YOSHIZAWA J. M. ET AL. Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clin Microbiol Rev* 2013; 26, 781–791.
16. EDLUND A, TASHA M, RODRÍGUEZ S, BOEHM T, PRIDE D. Bacteriophage and their potential roles in the human oral cavity. *J Oral Microbiol.* 2015; 7:27423.
17. PARKS C, MILLER F, POLLAR K, SELMI C, GERMOLEC D, JOYCE K, ET AL. Expert panel workshop consensus statement on the role of the environment in the development of autoimmune disease. *Int J Mol Sci* 2014; 15(8):14269–97.
18. TINGTAO CHEN, YAN SHI , XIAOLEI WANG, XIN WANG, FANJING MENG, SHAOGUO YANG, JIAN YANG, HONGBO XIN. Análisis de secuenciación de alto rendimiento de la diversidad microbiana oral en personas sanas y pacientes con caries dental y enfermedad periodontal. 2017; 16 (1): 127-132.
19. RONAY, V. & ATTIN, T. Black Stain- A review. *Oral Health Prev. Dent.* 2011; 9(1), 37–45.
20. ZYLA T, KAWALA B, ANTOSZEWSKA-SMITH J, KAWALA M. Black stain and dental caries: a review of the literature. *Biomed. Res. Int.* 2015; IDA 469392:1-6.
21. ZANJANI VA, GHASEMI A, TORABZADEH H, ET AL. Bleaching effect of ozone on pigmented teeth. *Dent Res J (Isfahan).* 2015; 12(1):20-4.
22. AYSUN G., AKYÜZ S., ÖZTÜRK LK, YARAT A. Saliva parameters and caries indices in children with black tooth spots. *Revista de odontología clínica pediátrica.* 2012; 36 (3): 285–288.
23. GARAN A, AKYUZ S, OZTURK LK, YARAT A. Salivary parameters and caries indices in children with black tooth stains. *J Clin Pediatric Dent.* 2012; 36 (3): 285-6.
24. YANHUI LI, CHENG-GANG ZOU, YU FU, YANHONG LI, QING ZHOU, BO LIU, ZHIGANG ZHANG, 2016; 17: 558.
25. GARCIA MARTIN JM, GONZALEZ GARCIA M, SEOANE LESTON J, LLORENTE PENDAS S, DIAZ MARTIN JJ, GARCIA-POLA MJ. Prevalence of black stains and associated risk factors in preschool Spanish children. *Pediatr Int.* 2013; 55 (3): 355-9.

26. LI Y, ZHANG Q, ZHANG F, LIU R, LIU H, CHEN F. Analysis of the black spot microbiota in the primary dentition. *Journal*. 2015; 10 (9).
27. SRUTHY PRATHAP, H. RAJESH, VINITHA. A. BOLOOR AND ANUPAMA. S. RAO. Extrinsic stains and management: A new insight. *J. Acad. Indus. Res.* 2013; 1 (8).
28. MENEZES COSTA CASTELO BRANCO C, MANOELLA PEREZ DOS SANTOS M, FORMIGA ARAÚJO L, GUARÉ R, BOTTI RODRIGUES DOS SANTOS MT, BAFFI DINIZ M. Pigmentações extrínsecas negras do esmalte. 2016; (3): 153-161.
29. KUMAR A, KUMAR V, SINGH J, and HOODA A, DUTTA S: Drug-induced discoloration of teeth: An updated review. *Clin Pediatric* .2012; 51:181–185.
30. FRANÇA-PINTO C.C, CENSI M.S, CORREA M.B, ROMANO A.R, PERES M.A, PERES K.G, MATIJASEVICH A, SANTOS I.S, BARROS A.J.D, DEMARCO F.F. Association between Black Stains and Dental Caries in Primary Teeth: Findings from a Brazilian Population-Based Birth Cohort. *Caries Res.* 2012;46:170–176
31. PARK, A., YAACOB, H. Pathogenic microbes of the oral environment. *Journal Nihon Univ. Sch. Dental.* 1994; 36: 1-33.
32. DWIPUTRI E, SITI INDIARTI I, SUHARSINI M. The Relation of a Mother's Dental Health Behavior and the Severity of Dental Black Stain in Children 4–8 Years Old. *Journal of International Dental and Medical Research.* 2018; 11 (1):197.
33. PAREDES GALLARDO, V; PAREDES CENCILLO, C. *And Pediatric (Barc).*2005; 62 (3):358-60.
34. REID JS, BEELEY JA, MACDONALD DG. Investigations into black extrinsic tooth stain. *J Dent Res.* 1977; 56(8):895-9.
35. LIMA DE QUEIROZ G, PINHEIRO CAMPOS A, BARROS QUEIROZ N, FREITAS DE SOUSA ALVES I, CARNEIRO VASCONCELOS S, BARBOSA MARTINS LF. Mancha dental extrínseca: revisão de literaria. *JOAC.* 2016; 2 (2).
36. FAWZI RACHID, HARIRI EL Black Stains in Primary Teeth: Overview Mehdi 2016; 1: 123-124.
37. LI Y, ZOU CG, FU Y, LI Y, ZHOU Q, LIU B, ZHANG Z, LIU J. Oral microbial community typing of caries and pigment in primary dentition. 2016; 17: 558.

38. ZHANG F, LI Y, XUN Z, ZHANG Q, LIU H, CHEN F. A preliminary study on the relationship between extrinsic black iron and tooth staining in children. *Epub* 2017; 64 (6): 424-429.
39. MOURA AL, MACEDO MP, PENIDO CVSR. Black extrinsic stain –case report. *Fac. Odontol Lins.* 2013; 23 (1):59-64.
40. PESSOA L, GALVÃO V, DAMANTE C, SANTANA A. Removal of black stains from teeth by photodynamic therapy: clinical and microbiological analysis. *BMJ Case Reports.* 2015; 212276: 1-5.
41. HEINRICH-WELTZIEN R, BARTSCH B, & EICK S. Dental caries and microbiota in children with black stain and non-discoloured dental plaque. *Caries Res.* 2014; 48, 118–125.
42. PALACIOS MH. Manejo clínico de la mancha negra en odontología. *Odontol Pediatr.* 2013; 12(2): 129-39.
43. SABA C, SOLIDANI M, BERLUTTI F, VESTRI A, OTTOLENGHI L. POLIMENI A. Black stains in the mixed dentition: A PCR microbiological study of the etiopathogenic bacteria. *J ClinPediatr Dent.* 2006; 30(2): 219–224.
44. RAVIKUMAR D, GURUNATHAN D, GAYATHRI R, PRIYA VV, GEETHA RV. Perfil de ADN de *Streptococcus mutans* en niños con y sin manchas de dientes negros: un análisis de reacción en cadena de la polimerasa. 2018 de septiembre a octubre; 15 (5): 334-339.
45. ORTIZ-LÓPEZ CS, VESES V, GARCIA-BAUTISTA JA, JOVANI-SANCHO MDM. Risk factors due to the presence of black dental plaque. *Rep. Sci.* 2018; 8 (1): 16752.
46. PRSKALO K, KLARIĆ SEVER E, ALERIĆ I, ANTONIĆ JELIĆ T, ŽAJA I. *Act Clin Croat.* 2017; 56 (1): 28-35.
47. SHOURIE KL, Mesenteric line or pigmented plaque: a sign of comparative freedom from caries, *The Journal of the American Dental Association.* 1947; 35(11):805–807.
48. LEUNG, S.W. Naturally occurring stains on the teeth of children. *Journal of Periodontology.* 1950; 47: 139-147.
49. KOCH MJ, BOVE M, SCHROFF J, PERLEA P, GARCÍA-GODOY F, STAEHLE HJ. Black stain and dental caries in school children in Potenza, Italy. *ASDC J Dent Child.* 2001; 68(5-6):353-5.

50. GASPARETTO A. Prevalence of Black Tooth Stains and Dental Caries in Brazilian School children. *Braz Dent J.* 2003; 14(3): 157-161.
51. SUTCLIFFE, P. Extrinsic tooth stains in children. *Dental Practit.* 1967; 5: 175-179.
52. XI CHEN X, ZHAN JY, LU HX, YE W, ZHANG W, YANG WJ, FENG XP. Factors associated with black tooth spots in Chinese preschool children. 2014; 18 (9): 2059-66.
53. MATHUR VP, DHILLON JK. Dental caries: a disease that needs attention. *Indian J Pediatric* 2018; 85 (3): 202-206.
54. WORLD HEALTH ORGANISATION: Oral health surveys. Basic Methods. 2 rd. Genève. Suisse, WHO. 1987.
55. KEYES, PH. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. *Arch Oral Biol.* 1960. 1: 304-20.356.
56. NEWBRUM. Restriction of sugar and substitution for the prevention of caries. 1978; 12 Suppl 1: 65-73.
57. URIBE-ECHEVERRIA J. PRIOTTO EG. Cariología. En Uribe-Echeverria J. *Operatoria Dental Ciencia y práctica.* 1º ed. Madrid: España: Avances Médicos-Dentales. 1990. Cariología cap. 1.
58. BAELUM, V; FEJERSKOV, O. Caries Diagnosis: “a mental resting place on the way to intervention? The disease and its clinical management. 1º ed. Copenhagen: Blackwell Munksgaard: 2003. P. 101-110.
59. MATTOS MA, MELGAR RA. Riesgo de caries dental. *Rev. Estomatol Herediana* 2004; 14(1-2): 101 - 106.
60. ROJAS HERRERA I. Dental caries prevalence and associated risk factors. *Rev. Cub Med Mil.* 2012; 41 (4 )
61. CUENCA SALAS E; BACA GARCIA P. Odontología Preventiva y Comunitaria. Caries dental. Etiología y diagnóstico. (93-105). Riesgo de caries (107-115). 4º ed. Elsevier Masson. Barcelona: España 2013.
62. PADILLA-SUZUKI BE, LLODRA-CALVO JC, ARACELI BELÍO-REYES I, GARCÍA-JAU RA, OSUNA-RAMÍREZ I, RAMÍREZ-ÁLVAREZ M, LOYOLA-RODRÍGUEZ JP. Predicción de riesgo de caries en escolares del noroeste de México: estudio longitudinal. *Revista de Investigación Clínica.* 2013; 65 (1): 24-29.

63. NASCO HIDAL N, GISPERT ABREU E, ROCHE MARTINEZ A, ALFARO MON M, PUPO TIGUERO RJ. Risk factors for incipient dental caries lesions in children. *Cubana Estomatol.* 2013; 50 (2).
64. CHAFFEE BW, FEATHERSTONE JDB, GANSKY S, ACHENG J, ZHAN L. Caries Risk Assessment Element Importance. Designation of risk and state of caries in children under 6 years. 2016; 1 (2): 131-142.
65. DIVARIS K. Predicting Dental Caries Outcomes in Children. A "Risky" Concept. 2016 Mar; 95 (3): 248-254.
66. LEAKE SL, PAGNI M, FALQUET L, TARONI F, GREUB G. El microbioma salival para diferenciar a los individuos: prueba de principio. *Microbios Infect.* 2016; 18, 399–405.
67. LAKSHMAN S, MATSUBARA VH. Flora oral normal y el ecosistema oral. Abril 2017; 61 (2): 199-215.
68. SARDUY BERMÚDEZ L, MARÍA ELENA GONZÁLEZ DÍAZ ME. Biofilm: a new conception of dent bacterial plaque. *Medicent Electron.* 2016; 20 (3).
69. TAKAHASHI N. Oral Microbiome Metabolism: From "Who Are They?" to "What Are They Doing?" *J Dent Res.* 2015; 94(12):1628-37.
70. OJEDA-GARCÉS JC, OVIEDO-GARCÍA E, SALAS LUIS A. *Streptococcus mutans* y caries dental. *CES odontol.* 2013; 26(1): 44-56.
71. GREENE JC, VERMILLION JR. The simplified oral index. *J Am Dent Assoc.* 1964; 68:7-13.
72. GONZÁLEZ SANZ AM, GONZÁLEZ NIETO B, GONZÁLEZ NIETO E. Dental health: relationship between dental caries and food consumption. *Nutr Hosp.* 2013; Suppl 4: 64-71.
73. RAVIKUMAR D, GURUNATHAN D, GAYATHRI R, PRIYA VV, GEETHA RV. Perfil de ADN de *Streptococcus mutans* en niños con y sin manchas de dientes negros: un análisis de reacción en cadena de la polimerasa. 2018; 15 (5): 334-339.
74. GONZÁLEZ SANZ A, GONZÁLEZ NIETO B, GONZÁLEZ NIETO E. Nutrición, dieta y salud oral. Dental health: relationship between dental caries and food consumption. 2013; 28 (4): 155-69.
75. LUEANGPIANSAMUT J, CHATRCHAIWIWATANA S, MUKTABHANT B, INTHALOHIT W. Relationship between dental caries status, nutritional status, snack foods, and sugar-sweetened beverages consumption among primary schoolchildren

- grade 4-6 in Nongbua Khamsaen school, Na Klang district, Nongbua Lampoo Province, Thailand. *J Med Assoc Thai* 2012; 95 (8): 1090-7.
76. COSTA MT, DORTA ML, RIBEIRO-DIAS F, PIMENTA FC. Biofilms of black tooth spots: PCR analysis reveals the presence of *Streptococcus mutans*. 2012; 23 (5): 555-8.
77. BARRIOS EC, VILA V, MARTINEZ SE, ENCINA TUCUY AJ. Salivary pH as a factor associated of Dental Caries. *Revisit Faculty of Odontology*. 2017; 10 (1): 1-7.
78. DAWES C, PEDERSEN AM, VILLA A, EKSTRÖM J, PROCTOR GB, VISSINK A, AFRAMIAN D, MCGOWAN R, ALIKO A, NARAYANA N, SIA YW, JOSHI RK, JENSEN SB, KERR AR, WOLFF A. The functions of human saliva: a review sponsored by the world workshop on oral medicine VI. *Arch Oral Biol* 2015; 60: 863-874.
79. FOGGIO-BONDA PL, MIGLIARIO M, ROCCHETTI V, PATTARINO F, FOGGIO-BONDA A. Daily and annually variation of unstimulated whole saliva flow rate and pH and their relation with body profile in healthy young adult. 2013; 17 (18): 2538-45.
80. TRIPODI D, MARTINELLI D, PASINI M, GIUCA MR, D'ERCOLE S. Black Stains: a microbiological analysis and a view on the familiarity and susceptibility to dental caries of childhood patients. 2016; 17 (4): 261-266.
81. REICH E. Trends in caries and periodontal health epidemiology in Europe. *Int Dent J* 2007; 51: 392-8.
82. KRASSE, B. O. Salivary examination. Caries risk. Chicago: Quintessence Publishing Co., Inc.2005:41-44.
83. BOWEN WH. The Stephan Curve revisited. 2013; 101(1):2-8.
84. MANDEL ID. Relation of saliva and plaque to caries. *J Dent Res Supplement to*. 2007; 53 (2): 246-66.
85. SCHEMEL-SUÁREZ M. Dental pigmentation and hemochromatosis: A case report. *Quintessence International*. 2017; 48 (2), 155-159.
86. YASUI M, RYU M, SAKURAI K, ISHIHARA K. Colonization of the oral cavity by periodontopathic bacteria in complete denture wearers. *Gerontology*. 2012; 29(2):e494-502.
87. VINAY K CHUGH, KUSHAL K SAHU, ANKITA CHUGH. Prevalence and Risk Factors for Dental Caries among Preschool Children: A Cross-sectional Study in

- Eastern India. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2018; 11(3):238-243.
88. BORDONI N, ESCOBAR A, CASTILLO MERCADO R. *Odontología Pediátrica. La salud bucal del niño y el adolescente en el mundo actual*. 1º Edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2010; cap.6 pp 114-115.
89. MINA S, RIGA C, AZCURRA AI, BRUNOTTO M. Alteraciones del ecosistema oral en niños celíacos: un estudio de seguimiento. *Ed Elviesier* 2012; 57 (2): 154-60.
90. DI RIENZO J.A, CASANOVES F, BALZARINI M, GONZALEZ L, TABLADA M, ROBLEDO C.W. *InfoStat versión 2018*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
91. CORNEJO L, BRUNOTTO M, HILAS E. Factores salivales asociados a prevalencia e incremento de caries dental en escolares rurales *Rev. Saúde Pública* 2008; 42(1):19-25.
92. SUBHA DOGRA, DEEPAK BHAYYA, RUCHI ARORA, DEEPESH SINGH, DASHMESH THAKUR. Evaluation of physio-chemical properties of saliva and comparison of its relation with dental caries. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*.2013; 31(4):1-4.
93. MAYRA TOVALINO FR, TORRES QUEVEDO JC. Pigmentaciones negras extrínsecas y su asociación con caries dental en niños con dentición mixta. *Rev. Estomatol. Herediana*. 2008; 18 (1):16-20.
94. THEILADE J, SLOTS J, FEDERSKOV O. The ultrastructure of black stain on human primary teeth. *Scan. J. Rev*. 1973; 81:528-532.
95. HEINRICH-WELTZIEN R, MONSE B, VAN PALENSTEINHELDERMAN Black stain and dental caries in Filipino schoolchildren. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*.2009; 37(2):182–187.
96. FRANCO KD, ISSAO M. Manchas extrínsecas e sua relação com a prevalência de cárie. *Rev. Paul Odontol*. 1990; 12 (3): 23-30.
97. FIGUEROA-GORDON M, ALONSO G, ACEVEDO AM. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. *Acta Odontológica Venezolana*. 2009; 47 (1).
98. BIRCHER ME. Mancha negra y caries en Dentición deciduas y Mixta. *Rosario: Journal*. 2008; 1 (1).

99. GÜLZOW HJ, SCHWARZE und GRÜNE ZAHNBELÁGE. Untersuchungen über ihre Häufigkeit und ihre Beziehungen zur Kariesfrequenz. Dtsch Zahnärztl 1963; 18: 1370-1376.
100. BASTOS VAS, GALAN JJR. Estudo das manchas extrínsecas negras e marrons e sua relação com as cáries dentárias. Revista Bras Odontol. 1992; 49(5):2-6.
101. COSTA SC, IMPARATO JCP, FRANCO AEA, CAMARGO MCF. Estudo da ocorrência de manchas extrínsecas negras em crianças e sua relação ao baixo índice de cárie dental. Rev Facul Odontol Santo Amaro. 1997; 2(4):36-38.
102. ALI BAGHERIAN A, GHOLAMREZA ASADIKARAM G. Comparison of some salivary characteristics between children with and without early childhood caries Indian Journal of Dental Research. 2012; 23 (5).
103. CARIDAD C. pH, Flujo Salival y Capacidad Buffer en Relación a la Formación de la Placa Dental ODOUS CIENTIFICA. 2008; 10 (1):25-32.
104. PADDICK J, BRAILSFORD S, KIDD E, GILBERT S, CLARK D, ALAM S, KILLICK Z, BEIGHTON D. Effect of the Environment on Genotypic Diversity of *Actinomyces naeslundii* and *Streptococcus oralis* in the Oral Biofilm Applied and environmental microbiology. 2003, 69(11): 6475–6480.
105. OJEDA-GARCÉS JC, OVIEDO-GARCÍA E, SALAS LA. *Streptococcus mutans* and dental caries. 2013. 26 (1).
106. VALLEJOS-SANCHEZ, Al. Defectos del esmalte, caries en dentición primaria, fuentes de fluoruro y su relación con caries en dientes permanentes. Gac Sanit. 2007; 21 (3):227-234.
107. KRZYSCIAK W, JURCZAK A, KOSCIELNIAK D, BYSTROWSKA B, SKALNIAK A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilm. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 2013; 33 (4): 499–515.
108. NÚÑEZ DP, GARCÍA BACALLAO L. Biochemistry of dental caries. 2010; 9 (2) 156-166.



## ANEXOS

---

## **Anexo 1. FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO PARA EL PADRE-MADRE O TUTOR**

**Título del Estudio: Manchas Negras Extrínsecas en el Ecosistema bucal: Relación con la Caries Dental** (estudio descriptivo correlacional, caso/control)

**Investigadores responsables del estudio:** Prof. Od. Mirtha Gandolfo (tesista)

Dra. Ana Maria Zarate (director de tesis)

Dra. Mirta Spadiliero de Lutri (codirector de tesis)

**Números de telefono:** 3543-152061069; 351-155552639; 155906937

**Poliza de seguro N°: 01019309-5** (según anexo).

Este formulario es para pedirle su autorización y consentimiento para que el niño que Ud. acompaña:.....DNI;..... participe libre y voluntariamente para un trabajo de investigación. Léalo atentamente. También puede leer la información disponible en la página del Ministerio de Salud (información para la persona que ha sido invitada a participar en una investigación. **Disponible en el sitio web:** <http://www.cba.gov.ar/vercanal.jsp?idCanal=65473>) o bien solicitar leer el protocolo de investigación y los datos de los profesionales involucrados en el estudio.

***Si se le presenta alguna duda usted puede comunicarse con:***

Comisión "Ad-Hoc" del **CIES " Comité de Ética en Investigación en Salud"** siendo su coordinadora la Dra. Gómez de Ferraris María Elsa, de la Facultad de Odontología, Secretaría de Ciencia y Técnica de la Facultad, 1ª piso. Escuela de Posgrado, de la Universidad Nacional de Córdoba, con domicilio en Av. Haya de la Torre S/N a la Izquierda del Pabellón Argentino. Agencia Postal N°: 4 CP: 5000- Ciudad Universitaria. Córdoba. Argentina. Teléfonos: 0054-0351-4333032- 4333033. Fax: 0054-0351-4334179.

### **¿CUÁL ES EL OBJETIVO DEL ESTUDIO?**

El objetivo de este estudio es obtener información que permita saber porqué se producen las Manchas Negras sobre las superficie de los dientes en algunos niños. De

ese modo se podrán tomar decisiones, para mejorar la estética de los niños que tengan las Manchas Negras, y al mismo tiempo mantener al paciente con buena salud en su boca, ya que las mismas están relacionadas según otros investigadores con una menor cantidad de caries.

Este estudio **no está relacionado directamente, ni afecta al tratamiento o diagnóstico** que haga su odontólogo.

### **¿CÓMO SE TOMARÁN Y GUARDARÁN LAS MUESTRAS?**

Utilizando las barreras de protección (guantes, barbijos, cofia, protectores oculares, guardapolvo, calzado adecuado) según las normas de bioseguridad vigentes, se recogerá placa bacteriana y un poco de Manchas Negras en los niños que la posean y también se recogerá placa bacteriana en niños que no tengan Manchas Negras. Para tal fin se utilizará instrumental adecuado: espátulas esterilizadas en estufa a 160°C durante 120 minutos. Por otra parte se le tomará saliva en un tubo estéril por salivación. Todo el material tomado **que se utilizará solo para realizar este trabajo**, se guardará en un freezer de la Cátedra "A" de Biología Celular, de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba, a una temperatura de -20°C (un año aproximadamente) con ese material obtenido se harán estudio genéticos, bacteriológicos y microbiológicos, para saber cuál es el microorganismo específico que produce las manchas negras en los dientes de algunos niños, y si este microorganismo (bacteria) actúa evitando la formación de caries dental.

Las muestras después de ser utilizadas serán colocadas en un recipiente rígido con hipoclorito de sodio al 5% y luego serán llevadas a autoclave, para finalmente ser destruidas como material biológico, a través de la empresa contratada por la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba.

Todos los procedimientos serán realizados de forma totalmente indolora y el paciente es resguardado con un seguro de la empresa San Cristóbal, con domicilio en San Martín N°: 730, teléfono N°:4285500, Córdoba-Argentina. Póliza N°; **11-1035936-9**. Con vigencia desde 02/10/2016 a 02/10/2017 siendo renovada anualmente, a través de Federación Odontológica de la Provincia de Córdoba.

### **¿CÓMO SE USARÁN LOS DATOS PERSONALES?**

Se realizará historia clínica obteniendo, datos personales, médicos y odontológicos. A cada historia clínica se le designará un código **resguardando así la confiabilidad** de sus datos. El niño será respetado en su dignidad, sus derechos, seguridad y bienestar. El responsable del estudio o cualquier persona asignada por éste tendrán acceso a la misma. Ante cualquier duda comunicarse con la Prof. Odontóloga investigadora Gandolfo, Mirtha R., los días lunes por la mañana de 9 a 12 hs y martes por la tarde de 14 a 16, 30 hs, en la Cátedra de Integral Niños y Adolescentes. Área Odontopediatría "A" de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba. Teléfono celular N°: 351-152061069, con la directora: Dra. Ana María Zárate en la Cátedra de Biología Celular "A" de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba. Teléfono celular N°: 351-155552639, y la Dra. Mirta Lutri de la Cátedra de Operatoria de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba. Teléfono celular N°: 351-15514976.

#### **DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

---

He recibido información verbal acerca del estudio mencionado y he leído la información adjunta. He tenido la posibilidad de hablar acerca del estudio y hacer preguntas

Doy mi consentimiento voluntario para que el menor.....DNI:.....  
.....participe en este estudio aceptando que se recopilen, usen y compartan mis datos de salud según se especifica en este formulario y autorizo el acceso a los mismos por parte de cualquier persona designada por el responsable de este estudio.

Comprendo que recibiré, un original firmado y fechado de esta información, del consentimiento informado y de cualquier otra información que se pudiera proporcionar

-----  
Firma del padre/madre/tutor legal del paciente

Fecha y hora de la firma

-----  
Nombre del paciente con letra de imprenta (manuscrito) ó nombre del padre/madre/tutor legal del paciente

DNI del paciente o del padre/madre/tutor legal del paciente

## Anexo 2. FORMULARIO DE ASENTIMIENTO DEL PACIENTE

Mi nombre es.....

Tu participación en este estudio es para ayudar a los investigadores a conocer porqué se forman manchas negras sobre los dientes de algunos niños. Quiero saber si te gustaría participar. Ya le conté a tus papis de todo esto, y ellos saben que te estoy preguntando si te gustaría hacerlo.

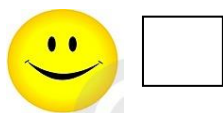
No tienes que contestar ahora, puedes pensarlo y hablarlo con tus papis. Si no entiendes algo preguntame las veces que quieras y te explicaré lo que necesitas saber.

Si decides colaborar en este estudio, tendrás que masticar un "chicle" de parafina y cuando se te junte saliva en la boca la deberás escupir dentro de un tubo de plástico, y después con una cucharilla pequeña de metal, te sacaré un poco de las bacterias que tienes en tus dientes.

Todo lo que te haré, no te va a molestar, y además estarás protegido con un seguro de la empresa San Cristóbal, con domicilio en San Martín N°: 730, teléfono; 4285500. Córdoba-Argentina. Póliza N°; **11-1035936-9** Con vigencia desde **02/10/2016 a 02/10/2017** siendo renovada anualmente, a través de Federación Odontológica de la Provincia de Córdoba.

Tu saliva, los microorganismos y algunas manchas negras sacadas de tus dientes serán guardadas durante un tiempo para estudiar: "**porque se forman manchas negras sobre los dientes de algunos niños**". Nadie sabrá que estás participando en este estudio. Puedes preguntarme todo lo que quieras saber.

Si estás decidida o decidido a participar libremente y voluntariamente poné tu nombre en la hoja y después marca la carita feliz si quieres colaborar o la carita triste si decides no participar. Yo te prometo que las guardaré junto con todo lo que tengo tuyo.



Nombre del paciente niño



Fecha y hora

### Anexo 3. HISTORIA CLINICA

#### DATOS FILIATORIOS

Apellido y Nombre..... DNI.....

Fecha de Nacimiento...../...../..... Lugar de Nacimiento.....

Nacionalidad.....

Edad..... Sexo F  M  Raza.....

Dirección..... N°.....

Teléfono fijo: .....Celular. 351.....

Obra social si  no  ¿Cuál?..... Af. N°:.....

Cobertura odontológica si  no

Centro de atención: Privado  ¿Cuál?.....

Público  ¿Cuál? .....

#### ANTECEDENTES FAMILIARES:

Apellido y Nombre Madre:.....

Edad:.....

Apellido y Nombre Padre:.....

Edad:.....

Hermanos 

si	no
----	----

 ¿cuántos? 

--	--

 Tienen manchas en sus dientes?.....

**ANTECEDENTES PERSONALES DEL NIÑO** (marque con x la respuesta afirmativa)

**Embarazo:** Normal..... Patológico.....

**Nacimiento:** A termino..... Prematuro.....Inducido..... Cesárea.....

Fórceps.....

**Enfermedades**

Hereditarias:                   ¿Desde cuándo?

Congénitas                               ¿Desde cuándo?

Adquiridas                               ¿Desde cuándo?

    Infecciosas            Cuáles?.....

Alérgicas:                    Cuáles?.....

Respiratorias:            Cuáles?.....

Desórdenes Endócrinos:            Cuáles?.....

**Enfermedad Actual:**.....

**ESTÁ TOMANDO ALGÚN MEDICAMENTO:**..... **cual:**.....

**ANTECEDENTES HEREDO-FAMILIARES**

Algún familiar padece diabetes? si  no  Quien?.....

Algún familiar padece alergia? si  no  Quien.....

Algún familiar padece hipertensión? si  no  Quien?.....

Algún familiar padece cáncer? si  no  Quien?.....

Otros.....

**EXAMEN EXTRAORAL:**

Rostro:.....

Cuello:.....

**EXAMEN INTRAORAL:**

Paladar:.....

Lengua:.....

Piso De Boca:.....

Encía:.....

Frenillos:.....

Mucosa:.....

**TEJIDOS DUROS**

Dientes Temporarios Presentes: N°:..... ¿Cuándo comenzó la erupción?.....

Dientes Permanentes Presentes N°:..... ¿Cuándo comenzó la erupción?.....

**PRESENTA FLUOROSIS** si  no  **Tipo:** Leve  Moderada  Grave

**Frecuencia de cepillado:** 1 vez/día 2 veces/día 3 veces /día  
más de 3 veces /día

Tipo de cepillo: .....

**Usa Hilo Dental** si  no

**Usa Pasta Dental** si  no  Tipo: .....

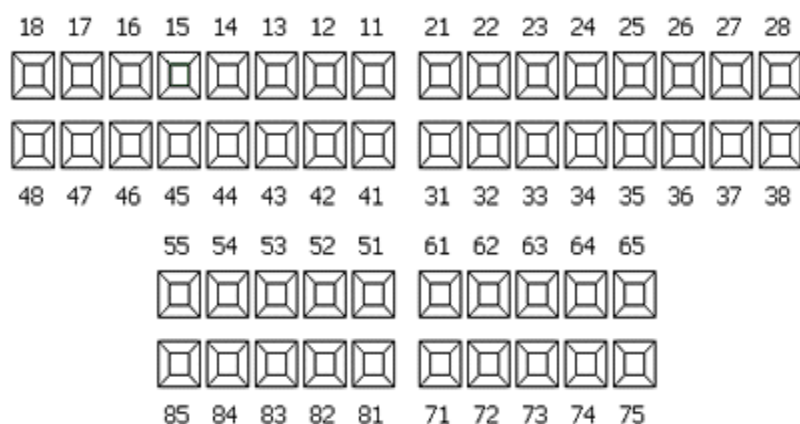
**Recibió de Flúor:** Anual..... Semanal:..... Semestral:.....

**Hábitos:** bruxismo  mordisqueo  onicofagia  chupa el dedo

Respirador bucal: permanente  nocturno



# Mancha negra extrínseca en el ecosistema bucal: relación con la caries dental



### Referencias:

- Azul: trabajo a realizar
- Rojo: trabajo realizado
- = extracción indicada
- X extracción realizada
- O corona
- ll diastema
- NP: caries no penetrante
- MB: Mancha Blanca
- Pg. Pigmentación.
- Δ: sellador
- Fi: fístula
- Fd: Fractura dentaria
- Od: obturación desbordante

**Total de dientes presente en**

**boca**.....

**CPOD**:.....**CPOS**:.....

**Cariados**..... **Perdidos**..... **Obturados**.....

**Dientes sanos**..... **Recuperable a sano**.....

**Ceod**:.....**Ceos**:.....

**Cariado**:.....**Extraído**:..... **Obturados**:.....

## INDICES de HIGIENE ORAL

Fecha:.....

Sector	Elemento	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Cara
Anterosuperior						
Antero inferior						
Posterosup. Der						
Posterosup. Izq.						
Posteroinf. Der.						
Posteroinf. Izq.						

### Referencias:

- 0: Ausencia de placa.
- 1: en el tercio gingival.
- 2: en el tercio medio.
- 3: en toda la superficie

### Resultado:

- 0 a 0.6 higiene buena
- 0.7 a 1.8 higiene moderada
- 1,8 -3 higiene deficiente.

**Flujo salival estimulado:**

Valor normal: > 1,1 mL/min

Valor bajo: 0,5 y 1,1 mL/min

Valor muy bajo: < 0,5mL/min

**pH salival:**

Valor adecuado: pH: >/= 6,0

Valor reducido: pH: 4,5-5,5

Valor bajo: pH: </= 0,4

**HISTORIA DE LA DIETA**

**Desayuno:**

Qué bebe y come?.....

Azúcar?..... cuánto?.....

Qué bebe o come entre el almuerzo y la cena?.....

**Almuerzo**

Qué bebe y come?.....

Azúcar?..... cuánto?.....

Qué bebe o come entre el almuerzo y la cena?.....

**Merienda**

Qué bebe y come?.....

Azúcar?..... cuánto?.....

Qué bebe o come entre el almuerzo y la cena?.....

Mancha negra extrínseca en el ecosistema bucal: relación con la caries dental

**Cena**

Qué bebe y come?.....

Azúcar?..... cuánto?.....

Qué bebe o come entre el almuerzo y la cena?.....

**Dieta:** < 4 momentos de azúcar  > 4 momentos de azúcar

**Características de los alimentos:** Adhesivos  No adhesivos

**TRATAMIENTOS REALIZADOS**

**FIRMA DE PACIENTE**

**ODONTÓLOGA      FECHA**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

**ANEXO 4: FICHA PARA LOCALIZACION Y EXTENSION DE LA MNE**

APELLIDO Y NOMBRE: .....

EDAD:..... SEXO:.....

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

VESTIBULAR

17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

PALATINO  
LINGUAL

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75

VESTIBULAR

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75

PALATINO  
LINGUAL

G°	V	P/L	T
1			
2			
3			
4			

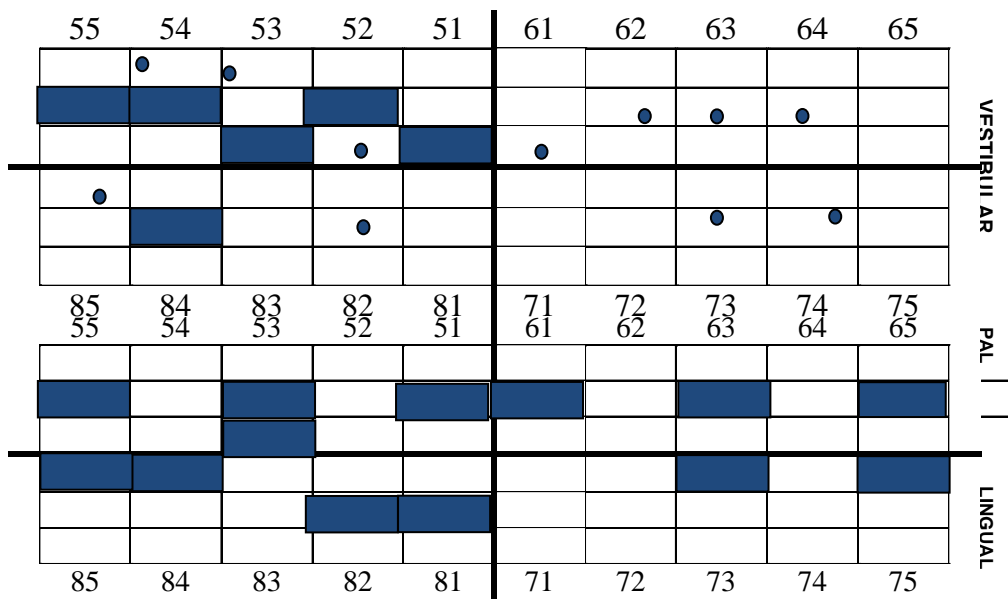
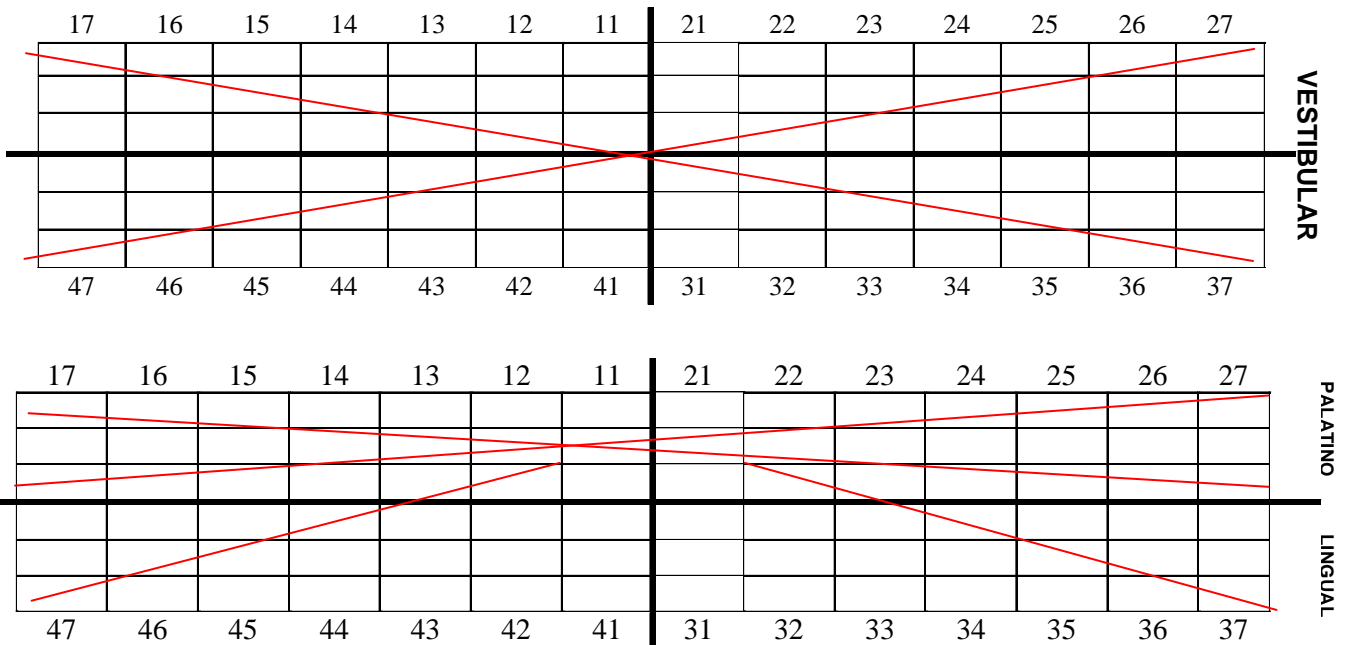
Grado 1	
Grado 2	
Grado 3	

Mancha negra extrínseca en el ecosistema bucal: relación con la caries dental

FICHA PARA LOCALIZACIÓN Y EXTENSIÓN DE LA MANCHA NEGRA EXTRINSECA

APELLIDO Y NOMBRE: Facundo

SEXO: M EDAD: 6



G°	VS/I	P/L	T
I	11/5	7/6	30
II	1		
III			

Localización				
tercio	gingival	medio	incisal	Total
	10	18	2	30

Grado I		
Grado II		
Grado III		

Mancha negra extrínseca en el ecosistema bucal: relación con la carie dental

**ANEXO 6.** Localización, extensión y frecuencia de MNE en dentición primaria y permanente de los pacientes con MNE estudiados.

		Dentición primaria										Dentición permanente											
Grado de extensión		Elementos dentarios										Elementos dentarios											
Cara del diente		55	54	53	52	51	61	62	63	64	65	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26
Vestibular Superior	I	4	5	7	2	1	1	1	6	4	5	4											1
	II	7	6	2	2	3	3	2	3	6	7	3											1
	III				2																		
Elementos dentarios primarios												Elementos dentarios permanentes											
Cara del diente		85	84	83	82	81	71	72	73	74	75	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36
Vestibular Inferior	I	3	4	4	3	2	3	4	3	4	3	2											1
	II	5	4	3	3	2	2		3	3	4	1				2	2	2	2				1
	III																						
Elementos dentarios primarios												Elementos dentarios permanentes											
Cara del diente		55	54	53	52	51	61	62	63	64	65	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26
Palatina	I	4	3	1	3	4	4	4	2	3	5	1				2	1	1	1				
	II	6	4	4	2			2	2	3	4					1	1	1	1				

