



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

ESTADO NUTRICIONAL Y FACTORES  
MICROBIOLÓGICOS ORALES  
ASOCIADOS A LA CARIES DE  
INFANCIA TEMPRANA EN NIÑOS DEL  
DISTRITO DE VILLA EL SALVADOR,  
LIMA, PERÚ

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS EN  
INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

ROXANA PATRICIA LÓPEZ RAMOS

LIMA - PERÚ

2024



**ASESORA**

Mónica Jehnny Pajuelo Travezaño, QF. MSc PhD

**CO ASESORES**

Evelyn Álvarez Vidigal CD. MSc PhD

María del Pilar Angarita Díaz Blog. MSc. PhD

Pablo Tsukayama Cisneros Blog. MSc PhD

**JURADO DE TESIS**

**PRESIDENTE**

**DRA. LIDIA YILENG TAY CHU JON**

**VOCAL**

**DRA. CYNTHIA FIORELLA ANTICONA HUAYNATE**

**SECRETARIO**

**DRA. MARITZA MERCEDES CALDERON SANCHEZ**

## **DEDICATORIA**

*Dedicado a mi querida madre Mirtha, mi mami bonita, por estar a mi lado en todo momento, y que hoy se encuentra en el cielo, por siempre mi ángel eterno.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, hermanas por apoyarme incondicionalmente en mi crecimiento profesional.

A mi asesora la Dra. Mónica Pajuelo por su amistad, comprensión y por su apoyo constante.

A la Dra. Evelyn Álvarez, por su amistad, por participar en el estudio y su apoyo constante y consejos.

Al Dr. Alejandro Mira, a pesar de la distancia, sus consejos siempre acertados en la investigación.

A la Dra. María del Pilar Angarita por sus recomendaciones para realizar la investigación.

Al Dr. Daniel Blanco por su amistad y consejos a lo largo de la elaboración del estudio.

Al equipo del Laboratorio de Microbiología Molecular, Lucero Arias, Angie Toledo, Mayra Ochoa, Luis Marcelo, Candy, Neiza y a mis entrañables Lucero Merino y Lucero Mascaró y mi agradecimiento eterno.

A mi querida Charito, de la ONG PRISMA, es una gran amiga y profesional, me enseñó que el estudio en campo a pesar de ser arduo es gratificante no por el estudio si no por el contacto de las personas, que te da otra visión a lo que sucede en cualquier centro odontológico público o privado.

A la ONG PRISMA, cuyo cargo de la sede en Villa el Salvador está la Lic. Lilia Cabrera, gracias por los consejos y participación en el estudio.

Al Dr. Robert Gilman, por brindar financiamiento y las facilidades para realizar el estudio.

Al Dr. Willy Lescano, coordinador del Programa de Doctorado en Ciencias de Investigación Epidemiológica, por el apoyo en la ejecución y término del estudio  
A CONCYTEC, por brindarme la beca y hacer la realidad de sueño de obtener mi grado de Doctor en Ciencias en Investigación Epidemiológica

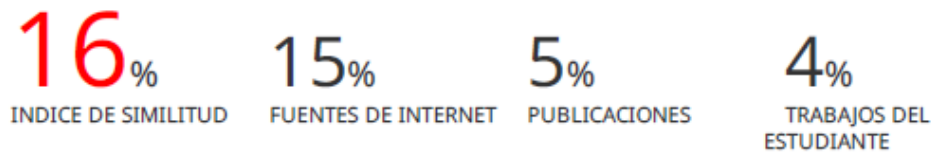
Y a cada una de las personas que de una u otra forma apoyaron en la realización del estudio.

## **FUENTES DE FINANCIAMIENTO**

La presente tesis fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (FONDECYT/CIENCIA ACTIVA, número de beca: EF033-235-2015), por el Centro Fogarty de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) de los Estados Unidos de América, fondos: D43TW007393 y 5R01AI108695.

# ESTADO NUTRICIONAL Y FACTORES MICROBIOLÓGICOS ORALES ASOCIADOS A LA CARIES DE INFANCIA TEMPRANA EN NIÑOS DEL DISTRITO DE VILLA EL SALVADOR, LIMA, PERÚ

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	2%
2	Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia Trabajo del estudiante	1%
3	<a href="https://repositorio.unap.edu.pe">repositorio.unap.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="https://iadr.abstractarchives.com">iadr.abstractarchives.com</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="https://repositoriobibliotecas.uv.cl">repositoriobibliotecas.uv.cl</a> Fuente de Internet	<1%
6	<a href="https://repositorio.unbosque.edu.co">repositorio.unbosque.edu.co</a> Fuente de Internet	<1%
7	<a href="https://repositorio.unica.edu.pe">repositorio.unica.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1%
8	<a href="https://repositorio.upch.edu.pe">repositorio.upch.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1%



## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN GENERAL	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPÍTULO I	11
Asociación entre el estado nutricional y la caries de infancia temprana en niños de 3 a 5 años.	11
1.1 Introducción .....	15
1.2 Pregunta de Investigación: .....	18
1.3 Objetivo:.....	19
1.4 Materiales y Métodos:.....	19
1.5 Resultados .....	33
1.6. Discusión.....	45
1.7 Limitaciones .....	51
1.8. Recomendaciones.....	52
1.9 Conclusiones .....	52
CAPÍTULO II	53
Asociación entre la concentración de <i>Streptococcus dentisani</i> y la caries de infancia temprana en niños de 3 a 5 años.....	53
2.1 Introducción. ....	57
2.2 Pregunta de Investigación: .....	61
2.3. Objetivo de la Investigación: .....	61
2.4. Materiales y Métodos .....	62
2.5. Resultados .....	76
2.6. Discusión.....	85
2.7. Limitaciones.....	88
2.8. Recomendaciones.....	88
2.9. Conclusiones. ....	89
CAPÍTULO III .....	90
Caracterización del microbioma oral en niños con y sin caries de la infancia temprana. Estudio exploratorio. ....	90
3.1. Introducción .....	93
3.2. Materiales y métodos. ....	94

3.3. Resultados .....	99
3.4. Discusión.....	104
3.5 Limitaciones.....	107
3.6. Recomendaciones.....	107
3.7. Conclusiones.....	107
IV. ASPECTOS ÉTICOS .....	107
V. CONCLUSIONES GENERALES .....	109
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	110
VIII. ANEXOS.....	125

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de indicadores antropométricos en niños menores de 11 años. ....	4
Tabla 2. Características de los niños entre los 3 a 5 años del distrito de Villa El Salvador, Perú (n=204). ....	34
Tabla 3. Características de hábitos de salud bucal de la población de estudio. ....	35
Tabla 4. Características de condiciones bucales en la población de estudio. ....	36
Tabla 5. Características del estado nutricional en la población de estudio. ....	37
Tabla 6. Factores asociados a Caries de Infancia Temprana y Estado Nutricional en análisis bivariado. ....	38
Tabla 7. Asociación entre Caries de Infancia Temprana y Estado Nutricional en análisis bivariado. ....	42
Tabla 8. Análisis multivariado entre CIT y estado nutricional ajustado por edad del cuidador, ingreso familiar mensual, puntuación de Índice de probabilidad y pobreza, frecuencia de cepillado dental, supervisión de cepillado dental, motivo de la primera visita al odontólogo, consumo de golosinas y nivel de higiene bucal. ....	44
Tabla 9. Primers usados en la prueba qPCR. ....	70
Tabla 10. Programación de q PCR – <i>Streptococcus dentisani</i> . ....	70
Tabla 11. Programación de q PCR – <i>Streptococcus mutans</i> . ....	70
Tabla 12. Concentración de <i>S. dentisani</i> y <i>S. mutans</i> en placa dental y saliva (n=204). ....	76
Tabla 13. Asociación del <i>S. dentisani</i> con covariables análisis bivariado. ....	78
Tabla 14. Correlación entre <i>S. dentisani</i> y <i>S. mutans</i> en muestras de placa dental y saliva (n=204). ....	80
Tabla 15. Correlación entre <i>S. dentisani</i> y el número lesiones cariosas en muestras de placa dental (n=204). ....	82
Tabla 16. Análisis multivariado entre CIT y concentración de <i>S. dentisani</i> en UFC/ng de ADN expresado en logaritmo en base 10, ajustado por variables confusoras. ....	84
Tabla 17. Distribución de las 18 muestras de saliva de los niños seleccionados. ....	99

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. DAG de la asociación entre estado nutricional y CIT que permite identificar las variables de confusión, y establecer posibles relaciones.....	31
Figura 2. Diagrama de flujo del estudio 1.....	33
Figura 3. Diagrama de flujo del estudio 2.....	62
Figura 4. Curva Estándar del <i>S. dentisani</i> , a: Eficiencia de Amplificación. b. Tabla de diluciones utilizada. c. Curva estándar mostrando la ecuación generada. ....	68
Figura 5. Curva Estándar del <i>S. mutans</i> , a: Eficiencia de Amplificación. b. Tabla de diluciones utilizada. c. Curva estándar mostrando la ecuación generada.....	68
Figura 6. DAG de la asociación entre concentración de <i>S. dentisani</i> y CIT. que permite identificar y controlar variables de confusión, y establecer posibles relaciones causales. ....	74
Figura 7. Correlación entre las concentraciones de <i>S. dentisani</i> y <i>S. mutans</i> en UFC/ng de ADN, en muestras de placa dental, expresado en logaritmo base 10. 80	80
Figura 8. Correlación entre las concentraciones de <i>S. dentisani</i> y <i>S. mutans</i> en UFC/ng de ADN, en muestras de saliva, expresado en logaritmo base 10.....	81
Figura 9. Diagrama de flujo del estudio 3.....	95
Figura 10. Diagrama de flujo del procesamiento del microbioma oral.....	96
Figura 11. Distribución taxonómica de lecturas del grupo con CIT por Kraken. 100	100
Figura 12. Distribución taxonómica de lecturas del grupo sin CIT por Kraken . 101	101
Figura 13. Abundancia relativa de los Top 20 especies en el microbioma oral de niños con caries y sin caries. ....	102
Figura 14. Comparación de los grupos taxonómicos entre el grupo con CIT y sin CIT, a través del análisis discriminante lineal del tamaño del efecto. ....	103

## GLOSARIO

- Preescolar: Niño con edad comprendida entre 2 y 5 años.
- Microbiota: Colección completa de microorganismos (bacterias, hongos, virus, etc.) que existen de modo natural en el interior de un nicho ecológico particular como un organismo y otros.
- Microbioma: Hace referencia a todo el material genético encontrado en un microorganismo individual, como bacterias, hongos o virus.
- Taxón: Clasificación biológica presenta subdivisiones, y cada una de estas corresponde a un taxón.
- Taxonomía: En biología comprende al ordenamiento con jerarquía y sistematizada, con sus nominaciones, tanto en animales y vegetales.
- Placa dental: Fina película que se deposita y adhiere sobre los dientes. Está compuesta por mucinas segregadas por las glándulas salivares, y por microorganismos.
- Ciclo umbral (Ct): Refiere al umbral de ciclo en la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR).
- Indicador antropométrico: Medida cuantitativa que se utiliza para evaluar el tamaño, la forma y la composición del cuerpo humano.
- Diagrama acíclico dirigido (en siglas DAG): Se consideran conjuntos de flechas que caracterizan las asociaciones causales entre exposiciones y resultados y también especifican las relaciones entre otras variables que influyen en la exposición o el resultado.

- Tampón: Solución que permite mantener condiciones fisiológicas y proporcionar un entorno estable para las células y tejidos durante diversos procedimientos experimentales.
- Edéntulo: Ausencia de dientes en una porción de la mandíbula y/o del maxilar.
- Índice ceo-d: El índice se calcula sumando el número de dientes deciduos afectados en cada categoría (caries, extraídos y obturados) y dividiendo ese total entre el número de individuos evaluados, a menudo ponderado por el número de dientes primarios presentes en cada niño.
- Kronagrama: utilizado para representar/mostrar que, cuando están presentes en concentraciones suficientemente altas, las especies pueden ensamblarse parcial o completamente en el genoma utilizando un proceso de análisis estándar y proporciona un desglose del número de lecturas ensambladas generadas para esa muestra.
- Kraken: es un sistema para asignar etiquetas taxonómicas a secuencias cortas de ADN, generalmente obtenidas a través de estudios metagenómicos.
- Krona: gráficos de pie de gran zoom y multicapa que permite explorar datos jerárquicos.
- Kronatools: herramientas bioinformáticas y formatos de datos crudos, que .se puede utilizar para crear gráficos Krona a partir de varias.
- Bacteriófago: o fagos, son virus que infectan y replican dentro de la bacteria.

## ABREVIATURAS

CIT: Caries de Infancia Temprana

IC: Intervalo de confianza

RP: Razón de prevalencia

DAG: Directed Acyclic Graph, en español: Gráfico acíclico dirigido.

PBS: Phosphate buffer saline, en español: Solución salina tamponada con fosfato.

IMC: Índice de masa corporal

Ct: Threshold cycle, en español: ciclo umbral.

ICDAS: Sistema internacional de detección y valoración de caries dental.

SIDISI: Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación.

qPCR: quantitative polymerase chain reaction, en español reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

LDA: Linear Discriminant Analysis, en español: Análisis lineal discriminante.

BHI: Brain Heart Infusion; en español Infusión Cerebro Corazón, es un medio de cultivo en agar o caldo.

## RESUMEN

La caries de infancia temprana (CIT) es uno de los problemas bucales más frecuentes en los niños a nivel mundial, en donde diversos factores estarían asociados a su desarrollo. Así tenemos que, el estado nutricional alterado en un individuo desde edades tempranas afectaría la condición de la cavidad bucal. Asimismo, el desequilibrio de los microorganismos orales juega un rol importante en este problema bucal. Sin embargo, existen bacterias propias de la cavidad bucal que resultan ser beneficiosas y actuarían contra la caries dental, como el *Streptococcus dentisani*. El objetivo de este estudio fue determinar el estado nutricional y factores microbiológicos orales asociados con la CIT en niños preescolares que residen en el distrito de Villa El Salvador. Los estudios fueron realizados en niños que provenían de un estudio de cohorte de nacimiento previa, de los que se contaba con evaluaciones antropométricas hasta los 2 primeros años de vida. En el presente estudio, los niños fueron sometidos a una evaluación intrabucal, y a una colecta de muestras biológicas (placa dental y saliva), y las madres/cuidadores respondieron cuestionarios sobre factores sociodemográficos, salud bucal y dieta. Adicionalmente, se realizó un análisis exploratorio del microbioma oral en un grupo reducido de participantes con y sin caries de la infancia temprana.

Investigación 1: El objetivo fue evaluar la asociación entre las CIT y el estado nutricional previo y actual. Participaron 204 niños, y debido a la pandemia, fue ejecutado en 2 periodos: 1º Periodo: Febrero-Marzo 2020 y 2º Periodo: Agosto 2021. Se realizaron evaluaciones bucales a los niños y se registraron datos sociodemográficos, de hábitos bucales, dieta cariogénica y datos antropométricos



en ese momento del estudio y así como de los datos registrados al año y dos años (tomados de los datos almacenados del estudio de cohorte previo). En este estudio se encontró que la prevalencia de CIT en el 1º período fue de 77.7% y en el 2º período de 71.1%; con una prevalencia total de 75%. En relación con la asociación con los indicadores antropométricos al año y dos años, tanto la talla para la edad y el puntaje z de IMC para la edad no fueron estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ). Sin embargo; en el análisis a la edad de la evaluación bucal, se encontró que, por cada aumento de una unidad del IMC para la edad, la prevalencia de CIT en niños disminuyó en un 7% (IC 95%; 1%, 12%) ajustado por edad del cuidador, ingreso familiar mensual, puntuación de Índice de probabilidad y pobreza, frecuencia de cepillado dental, supervisión de cepillado dental, motivo de la primera visita al odontólogo, consumo de golosinas y nivel de higiene bucal ( $p = 0.049$ ). Talla para la edad no fue significativo a la edad actual ( $p > 0.05$ ). La prevalencia de CIT en niños con higiene bucal deficiente fue 3.72 veces la prevalencia de CIT en niños con buena higiene bucal (IC 95%; de 2.03, 6.81); a su vez la prevalencia de CIT en niños que consumen golosina más de dos veces al día fue 1.19 veces que los que no consumían golosinas, (IC 95%: 1.01 a 1.40).

Investigación 2: El objetivo fue evaluar la asociación de *Streptococcus dentisani* con la CIT en muestras de placa dental; adicionalmente, la relación entre el *Streptococcus dentisani* y el *Streptococcus mutans* en muestras de placa dental y saliva. La población de estudio fue la misma de la Investigación 1. Se realizó la extracción de ADN a partir de las muestras colectadas, para luego ser sometidas a la prueba de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR). Los resultados mostraron que los niños con CIT presentaron menores concentraciones

de *Streptococcus dentisani*, pero mayores concentraciones de *Streptococcus mutans* ( $p < 0.05$ ). Además, se observó que el promedio de la concentración de *Streptococcus dentisani* fue 0.52 UFC/ng de ADN menor en niños con CIT, (CI al 95%; -1.00, -0.03) ajustado por frecuencia de cepillado dental, uso de pasta con flúor, consumo de golosinas al día, consumo de carbohidratos fermentables entre comidas, pH salival, nivel de higiene bucal. Además, se identificó que el promedio de concentración de *Streptococcus dentisani* fue de 0.65 UFC/ml de ADN menor en niños que consumían golosinas una o dos veces al día en comparación con aquellos que no los consumían, IC 95%; -1.13, -0.16).

Investigación 3: Este fue un estudio exploratorio que tuvo como objetivo caracterizar el microbioma oral en 9 niños con CIT y 9 niños sin CIT, en muestras de saliva de niños recolectadas en el estudio 1. Se extrajo el ADN de las muestras para ser secuenciadas en SeqCenter, LLC, según la técnica metagenómica Shotgun. Se realizó un análisis bioinformático, usando RStudio v.4.3. Las especies encontradas variaron entre los grupos con y sin CIT: en los niños sin CIT, se destacó la presencia de *Streptococcus phage sp SL1*, mientras que en los niños con CIT predominó la especie *Leptotrichia sp oral taxon 847*. Además, ambos grupos mostraron tres especies con alta abundancia relativa: *Streptococcus mitis*, *Neisseria sicca* y *Veillonella parvula*.

**Conclusiones:** No encontramos asociación entre el estado nutricional previo (1 y 2 años) con la CIT evaluada en niños de 3-5 años. Sin embargo, encontramos una asociación inversa entre el índice de masa corporal para la edad y la CIT en niños de 3 a 5 años. Por otro lado, confirmamos que concentraciones mayores de *Streptococcus dentisani* se presentan en niños sin CIT, sugiriendo ser una bacteria

beneficiosa. Finalmente, se observaron diferencias en el microbioma oral entre los niños que tenían y no caries de la infancia temprana.

**Palabras claves:** Niños, Nutrición, *Streptococcus*, Caries dental, Microbioma oral.

## ABSTRACT

Early childhood caries (ECC) is one of the most frequent oral problems in children worldwide, where several factors are associated with its development. Thus, the altered nutritional status of an individual from an early age would affect the condition of the oral cavity. Likewise, the imbalance of oral microorganisms plays an important role in this oral problem. However, there are beneficial oral bacteria, such as *Streptococcus dentisani*, which are found in the oral cavity and act against dental caries. The aim of this study was to determine whether nutritional status and oral microbiological factors influence dental caries in preschool children residing in the district of Villa El Salvador. The studies were conducted in children from a previous birth cohort study for whom anthropometric assessments were available up to 2 years of age. In the present study, children underwent intraoral assessment, and collection of biological samples (dental plaque and saliva), and mothers/caregivers completed questionnaires on socio-demographic factors, oral health and diet. In addition, an exploratory analysis of the oral microbiome was conducted in a small group of participants with and without early childhood caries.

Research 1. The objective was to assess the association between ECC and previous and current nutritional status. A total of 204 children participated, and due to the pandemic, it was executed in 2 periods: 1st period: February-March 2020 and 2nd period: August 2021. Oral assessments were performed on the children and socio-demographic, oral habits, cariogenic diet and anthropometric data were recorded at the time of the study as well as data recorded at one year and two years (taken from the data stored from the previous cohort study). In this study the prevalence of ECC in the 1st period was found to be 77.7% and in the 2nd period 71.1%; with a total

prevalence of 75%. In relation to the association with anthropometric indicators at one and two years, both height-for-age and BMI-for-age z-score were not statistically significant ( $p>0.05$ ). However, in the analysis at age of oral assessment, it was found that for every one unit increase in BMI-for-age, the prevalence of ECC in children decreased by 7% (95% CI; 1%, 12%) adjusted for caregiver age, monthly household income, Likelihood and Poverty Index score, frequency of toothbrushing, supervision of toothbrushing, reason for first dental visit, consumption of sweets and level of oral hygiene ( $p=0.049$ ). Height-for-age was not significant at current age ( $p>0.05$ ). The prevalence of ECC in children with poor oral hygiene was 3.72 times the prevalence of ECC in children with good oral hygiene (95% CI: 2.03, 6.81); the prevalence of ECC in children who consumed sweets more than twice a day was 1.19 times that of children who did not consume sweets, (95% CI: 1.01 to 1.40).

Research 2. The objective was to evaluate the association of *Streptococcus dentisani* with ECC in dental plaque and saliva samples; additionally, the relationship between *Streptococcus dentisani* and *Streptococcus mutans*. The study population was the same as in Investigation 1. DNA extraction was performed from the collected samples, which were then subjected to real-time polymerase chain reaction (qPCR). The results showed that children with ECC had lower concentrations of *Streptococcus dentisani*, but higher concentrations of *Streptococcus mutans* ( $p<0.05$ ). In addition, it was observed that the mean *Streptococcus dentisani* concentration was 0.52 CFU/ng DNA lower in children with ECC, (95% CI; -1.00, -0.03) adjusted for frequency of toothbrushing, use of fluoride toothpaste, daily sweets intake, fermentable carbohydrate intake between

meals, salivary pH, level of oral hygiene. In addition, it was identified that the average *Streptococcus dentisani* concentration was 0.65 CFU/ml DNA lower in children who consumed sweets once or twice a day compared to those who did not, 95% CI: -1.13, -0.16).

Research 3: This was an exploratory study that aimed to characterise the oral microbiome in 9 children with ECC and 9 children without ECC, in saliva samples from children collected in study 1. DNA was extracted from the samples to be sequenced in SeqCenter, LLC, according to the Shotgun metagenomic technique. Bioinformatic analysis was performed, using RStudio v.4.3. The species found varied between the groups with and without ECC: in children without ECC, the presence of *Streptococcus phage sp SL1* stood out, while in children with ECC the species *Leptotrichia sp oral taxon 847* predominated. In addition, both groups showed three species with high relative abundance: *Streptococcus mitis*, *Neisseria sicca* and *Veillonella parvula*.

Conclusions: We found no association between previous nutritional status (1 and 2 years) with assessed ECC in children aged 3-5 years. However, we found an inverse association between body mass index for age, and ECC in children aged 3-5 years, adjusted for caregiver age, monthly household income, Likelihood and Poverty Index score, frequency of toothbrushing, supervision of toothbrushing, reason for first visit to the dentist, consumption of sweets and level of oral hygiene. On the other hand, we confirmed that higher concentrations of *Streptococcus dentisani* are present in children without ECC, suggesting that it is a beneficial bacterium. Finally, differences in the oral microbiome were observed between children with and without ECC.

**keywords:** Children, Nutrition, *Streptococcus*, Dental caries, Oral Microbiome.

## INTRODUCCIÓN GENERAL

Los niños pueden sufrir diversas enfermedades que afectan su estado general y repercuten en su salud bucal. Una de las enfermedades bucales más frecuentes es la caries de infancia temprana (CIT), la cual está asociada a diversos factores. Entre ellos, un estado nutricional alterado puede contribuir al desarrollo de la CIT. Además, los microorganismos orales desempeñan un papel importante en la CIT. A continuación, se profundizará en la CIT, así como en estos dos factores y su posible asociación con esta enfermedad.

### *Caries de la Infancia Temprana (CIT)*

Determinado como la existencia de una o más estructuras cariadas (no cavitadas o cavitadas), que estén ausentes y obturados (por caries), en algún diente deciduo de un niño de menos de 6 años (1–3). Estos mantienen el lugar para los dientes permanentes y son importantes para la comodidad del niño, pues las lesiones de caries pueden provocar dolor permanente, infecciones y otras enfermedades(1,3). A pesar de ser prevenible, a nivel mundial más de 600 millones de niños presentan lesiones cariosas, y en un gran número de ellos, estas lesiones aún se encuentran sin tratar(1,4). Así, estas condiciones bucales causan una gran repercusión negativa en la calidad de vida de los niños y sus familias, y por ende, a la sociedad (4,5).

El panel de expertos de la Cumbre Mundial de Bangkok sobre CIT resumió la información obtenida de 72 estudios a nivel mundial entre 1998 y 2018, que evaluaron la prevalencia de caries en niños preescolares(1,2). Estos 72 informes concluyeron que el promedio de la prevalencia de caries en niños de 1 año de edad



fue de 17%, y que esta aumentaba considerablemente hasta un 36% en niños de 2 años de edad(1,4). Además, también se reportó que los promedios de las prevalencias de caries en niños de 3, 4 y 5 años fueron del 43%, 55% y 63%, respectivamente (2,5). Sin embargo, estos informes también han resaltado que los diferentes criterios utilizados para identificar lesiones de caries dental, los diversos métodos de examen y la falta de calibración de los examinadores pueden tornar imprecisos estos valores.

Diversos estudios han reportado que la CIT es muy prevalente, sin embargo, también presenta una mayor prevalencia de lesiones cariosas sin tratar, es decir sin tratamiento, principalmente en niños con tres años de edad a menos (2,5).

El tratamiento sobre CIT severa suele implicar tratamientos restauradores invasivos, exodoncia de dientes primarios, la conservación del espacio y, en donde los niños demuestren poca o ninguna colaboración para la ejecución de los tratamientos odontológicos, estos deberán ser realizados bajo sedación o anestesia general que significan costos considerables (2,5). Asimismo, las repercusiones de la CIT también incorporan un superior riesgo de nuevas lesiones cariosas, dolor agudo y crónico(1,4), internamiento y/o asistencia a emergencia, retrasos en el crecimiento y desarrollo, y reducción de la calidad de vida (1–3).

Por lo mencionado, la CIT es considerada una enfermedad asociada a múltiples factores. A continuación, se desarrolla dos de los posibles factores relevantes que se encontrarían asociados a la CIT.

### *1. Estado nutricional.*

El estado nutricional se refiere al estado del cuerpo en relación con el consumo y la utilización de nutrientes. Este depende de diversos factores tales como los genéticos, biológicos, culturales, psico-socioeconómicos y ambientales (6–8).

En el 2021, La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que alrededor de 52,000 000 de niños menores de cinco años padecen emaciación, 17,000 000 evidencia emaciación severa, y 155 000 000 padecen retardo del crecimiento, e incluso 41,000 000 evidenciaron sobrepeso/obesidad(9). La desnutrición es particularmente preocupante a corto plazo, ya que está asociada con el 45 % de las muertes entre los niños menores de 5 años (10,11).

En el 2023, el 11.5% la población peruana menor de cinco años de edad padeció de desnutrición crónica, según el Patrón de la OMS, e informaciones brindadas por el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) (12). Los datos revelaron que en la zona urbana la desnutrición crónica fue de 8.1% y en el área rural fue de 20.3%. Además, con respecto al sobrepeso y obesidad se presentó en un 9.1% en niños menores de 5 años(12). El Ministerio de Salud del Perú (MINSA) categorizó la valoración nutricional antropométrica según el indicador y rango etario(13), se puede apreciar en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de indicadores antropométricos en niños menores de 11 años.

<b>Indicador Antropométrico</b>	<b>&lt; 5 años y 29 días</b>	<b>De 5 años 1 mes a 11 años</b>
<b>Talla para la Edad</b>		
Talla baja severa	<-3DE	<-3DE
Desnutrición crónica	<-2DE al -3DE	<-2DE al -3DE
Normal	2DE al -2DE	2DE al -2DE
Talla alta	>2DE	>2DE
<b>Peso para la Talla</b>		
Bajo peso severo	<-3DE	
Desnutrición aguda	<-2DE al -3DE	
Normal	2DE al -2DE	
Sobrepeso	>2DE	
Obesidad	>3DE	
<b>Peso para la Edad</b>		
Bajo peso severo	<-3DE	
Bajo peso	<-2DE al -3DE	
Normal	2DE al -2DE	
Sobrepeso	>2DE	
<b>IMC para la Edad</b>		
Delgadez severa		<-3DE
Delgadez		<-2DE al -3DE
Normal		1DE al -2DE
Sobrepeso		>1DE al 2DE
Obesidad		>2DE

Fuente: Ministerio de Salud. Guía técnica para la valoración nutricional antropométrica de la niña y el niño de 0 a 11 años. Perú.2024.

*a. Estado nutricional y Caries dental.*

La CIT es una enfermedad con múltiples factores que repercute en el factor nutricional (6,7). Así, un buen estado nutricional en una persona resulta en un balance de los nutrientes y las necesidades que tiene el individuo, los cuales ingresan, se absorben y se metabolizan en el organismo (7). Estas condiciones resultan en una adecuada ingestión de alimentos durante la infancia, que es óptima para el crecimiento; pues existe un alto riesgo de mala nutrición en esta etapa de la vida (7,8).

Cuando el estado nutricional se ve afectado durante la infancia también puede repercutir negativamente en la salud bucal, pues puede comprometer la función de

las glándulas salivales (6,7), disminuyendo la reducción del flujo salival (6,8). Esta disminución limitará la limpieza de los azúcares en saliva, facilitando el desarrollo de caries dental. Además, la exposición frecuente al azúcar lleva a una generación continua de ácido y a la desmineralización consecuente de la superficie dental, originando lesiones cariosas (1). Asimismo, el estado nutricional puede afectar el desarrollo y el tiempo de erupción de los dientes, exacerbando las enfermedades infecciosas bucales (14); y también afectar el desarrollo de las estructuras óseas de los maxilares (15,16).

Los resultados de revisiones sistemáticas que han evaluado la asociación entre el estado nutricional (en términos de malnutrición, desnutrición, bajo talla para la edad, bajo peso para la talla, IMC, obesidad y sobrepeso) y la caries dental son contradictorios, pues han reportado una asociación positiva, negativa, inversa y no concluyente entre ambas (17–19). Debido a las condiciones y las limitaciones de dichos estudios, se sugiere la necesidad de refinar el control de las variables confusoras tales como dieta, ingreso económico familiar y otros, así como unificar criterios de categorización en las mediciones sobre caries dental y medidas antropométricas (19).

Adicionalmente, hasta el momento, en nuestro país existe escasa información de estudios publicados, resaltando algunos como los de Vargas et al.(20,21), donde mencionan que la desnutrición aguda se relaciona principalmente con un mal estado de salud bucodental, medido a través de diferentes indicadores, como la inflamación gingival, el sangrado gingival, la mala higiene bucal y la presencia de placa dental; mientras Padilla et al.(21), informan que no existe asociación entre CIT y el estado nutricional en niños de 3 a 5 años; sin embargo, se encontró una

relación significativa entre los valores del índice ceo-d (evalúa dientes cariados, extraídos y obturados) y el estado nutricional de los niños. La evidencia más relevante proviene de los estudios realizados por Álvarez et al.(22–24). Uno de estos estudios fue de tipo longitudinal y dio lugar a dos estudios transversales en niños reclutados entre los 6 y 11 meses de edad, seguidos hasta los 4 años. El objetivo fue evaluar la asociación entre la desnutrición y la caries dental en dientes primarios en la década de 1990. Los resultados concluyeron que existe una asociación entre la malnutrición crónica y un aumento en la incidencia de lesiones cariosas.

## *2. Factor microbiológico: microorganismos orales*

Según la base de datos ampliada del microbioma oral humano, llamada eHOMD, la cavidad oral puede albergar más de 700 especies procariotas (25,26). Los estudios basados en el ADN han demostrado que cada individuo alberga un microbioma oral único debido a una dieta diferente, una exposición diferencial al ambiente externo o al estado de salud bucodental (25,27), junto con otras condiciones geográficas y relacionadas con el huésped que pueden contribuir también a la conformación de la composición y diversidad de la microbiota oral(28).

### *a. Microorganismos orales y la CIT*

La evidencia actual afirma que el desarrollo de la CIT es causado por una interacción entre bacterias acidogénicas, un sustrato de carbohidratos (azúcares) y la susceptibilidad del huésped, conduciendo a una disbiosis bacteriana, y, por

ende, la desmineralización del tejido dental. Una de las especies bacterianas tolerante al ácido es el *Streptococcus mutans*, y cuya presencia temprana en niños edéntulos , en quienes aún los dientes no erupcionan, permite que los tejidos blandos puedan desempeñar un papel como reservorio de microorganismos patógenos orales (29).

Se han realizado investigaciones alrededor del mundo teniendo como objetivo investigar las bacterias patógenas bucales y recientemente se ha ampliado la lista de estas bacterias por ejemplo *Bifidobacterium spp.* y *Scardovia wiggisiae*, entre otras (27). Sin embargo, además de las bacterias asociadas a enfermedades, en las últimas décadas se ha propuesto y confirmado la presencia de microorganismos orales promotores de la salud. Estos incluyen bacterias capaces de amortiguar el pH ácido mediante la producción de amoníaco, reducir la inflamación gingival o inhibir el crecimiento de patógenos, entre otros beneficios (30). Inicialmente, la mayoría de las bacterias probadas como probióticos para la salud oral se aislaron del intestino o de productos lácteos, pero su eficacia de colonización oral ha sido cuestionada. Recientemente, se ha propuesto el uso de bacterias orales autóctonas con funciones beneficiosas demostradas como cepas probióticas con mayores posibilidades de colonización oral y para la prevención de enfermedades orales (27,31–33).

*b. Streptococcus dentisani y su relación con la caries dental.*

El *Streptococcus dentisani* es una reciente especie aislada a partir de la superficie dental de dos adultos españoles sin caries (34,35). Se realizaron una serie de estudios sobre caracterización genómica, taxonómica y bioquímica, los cuales

condujeron a la identificación de dos cepas como *Streptococcus dentisani*: Str. 7746 y Str. 7747 (35). Posteriormente, se realizaron estudios para conocer la prevalencia de este microorganismo en la placa dental de personas sin caries; y debido a los resultados, se sugirió como un probiótico prometedor; ya que además mostró su capacidad inhibitoria sobre otros microorganismos orales como *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, a través de la producción de bacteriocinas(35). No solo actividad contra Gram-positivos, sino también contra Gram-negativos tales como *Fusobacterium nucleatum*(34,35) también asociado a caries dental. Además, se mostró su facultad para alcalinizar el entorno extracelular a través del sistema de la arginina deiminasa (31). Posteriormente, estudios experimentales han respaldado su potencial y propiedades probióticas (36–38).

Existen escasos estudios realizados sobre la presencia y cuantificación del *Streptococcus dentisani* en niños. Actualmente, existen solo tres estudios, dos de los cuales han encontrado mayor concentración de esta bacteria en niños entre las edades de 6 a 11 años sin caries dental (27,39). Sin embargo, el tercer estudio no encontró diferencias entre el grupo de niños con y sin caries (40); así, la evidencia no es concluyente cuando se usan diferentes poblaciones (27). Por lo tanto, es necesario evaluar su presencia en edades tempranas, para poder establecer medidas preventivas contra la CIT, principalmente en los niños menores de 6 años que presentan una alta prevalencia a nivel mundial.

Entre el 2016 y el 2019, se realizó un estudio cohorte de nacimiento, en donde un total de 345 recién nacidos y sus madres fueron reclutados en una zona periurbana en Villa El Salvador. Los niños fueron seguidos hasta los 24 meses de edad, con

el objetivo de estudiar infecciones gastrointestinales y su efecto en la salud de los niños. En dicho estudio, se colectó información antropométrica mensual, brindando una oportunidad para estudiar el efecto del estado nutricional de infantes en sus primeros años de vida sobre la CIT(41).

Considerando lo expuesto anteriormente, la presente tesis doctoral planteó los siguientes objetivos:

Objetivo 1:

Determinar la asociación entre el estado nutricional y la CIT en niños de 3 a 5 años que residen en el distrito de Villa El Salvador.

Objetivo 2:

Determinar la relación entre las concentraciones de *Streptococcus dentisani* en placa dental y la CIT en niños de 3 a 5 años que residen en el distrito de Villa El Salvador.

Objetivo 3:

Caracterizar el microbioma oral en niños de 3 y 4 años con y sin CIT que residen en el distrito de Villa El Salvador.

Para cumplir con estos objetivos, se realizó una evaluación transversal de la salud bucal de niños de 3 a 5 años, que habían formado parte previamente de la cohorte de nacimiento (estudio madre); además, de evaluaciones del estado nutricional, por medio de medidas antropométricas recomendadas por la OMS. Cabe mencionar, que el peso y talla de estos niños al año y dos años se obtuvo del estudio madre. En el presente estudio, también se recopilaron datos sociodemográficos, información de dieta cariogénica, hábitos de salud bucal, y



así como evaluación del pH saliva. Además, se recolectaron muestras biológicas (placa dental y saliva) para evaluar el factor microbiológico del estudio. Por ende, la tesis doctoral se estructuró en tres sub-estudios descritos en los capítulos I al III.

## CAPÍTULO I

### **Asociación entre el estado nutricional y la caries de infancia temprana en niños de 3 a 5 años.**

#### **Resumen**

**Objetivo.** Evaluar la asociación entre el estado nutricional y la caries de la infancia temprana (CIT) en niños de 3 a 5 que residen en el distrito de Villa El Salvador.

**Material y métodos.** Estudio transversal en el que participaron 204 niños de 3 a 5 años, que formaron parte de un estudio de cohorte de nacimiento residentes en el distrito de Villa El Salvador, Lima, y del que se obtuvieron los datos antropométricos al año y a los 2 años. Todas las medidas antropométricas se obtuvieron según las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS). La evaluación bucal para determinar la condición de CIT se realizó según el Sistema internacional de detección y valoración de caries dental (ICDAS II). Las madres/cuidadoras respondieron a un cuestionario validado relacionado a hábitos de salud bucal y dieta cariogénica y datos sociodemográficos. Sin embargo, a raíz de las restricciones por la pandemia del COVID-19, los datos se recogieron en dos periodos (1º Periodo: Febrero-Marzo 2020 y 2º Periodo: Agosto 2021).

**Resultados.** La prevalencia de CIT en los niños de 3-5 años fue del 75%. No se encontró asociación entre estado nutricional previo (al año y dos años) y la CIT. Con el estado nutricional actual, se encontró que, por cada unidad de aumento en el IMC para la edad, la prevalencia de CIT disminuye en un 7% (IC 95%:

1%; 12%) ajustado por confusoras conocidos. La prevalencia de CIT en niños con higiene bucal deficiente fue 3.73 veces que aquellos con buena higiene bucal, (IC al 95%; 2.09, 6.55). Además, la prevalencia de CIT en niños que consumían diariamente más de 2 veces golosinas fue 1.19 veces que aquellos que no consumían (IC 95%: 1.01, 1.40).

**Conclusiones.** Existe asociación inversa entre el IMC para la edad actual con la caries de infancia temprana.

**Palabras claves:** Caries Dental, Preescolar, Estado Nutricional, Obesidad

## **Abstract**

**Objective.** To assess the association between nutritional status and early childhood caries (ECC) in children aged 3 to 5 residing in the district of Villa El Salvador.

**Material and methods.** Cross-sectional study involving 204 children aged 3 to 5 years, who were part of a birth cohort study residing in the district of Villa El Salvador, Lima, and from which anthropometric data were obtained at 1 and 2 years of age. Height and weight measurements were obtained according to World Health Organization (WHO) recommendations. Oral assessment to determine ECC status was performed according to the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS II). Mothers/caregivers answered a validated questionnaire related to oral health habits and cariogenic diet and socio-demographic data.

**Results.** The prevalence of ECC in children aged 3-5 years was 75%. No association was found between previous nutritional status (at one and two years) and ECC. With current nutritional status, it was found that, for each unit increase in BMI-for-age, the prevalence of ECC decreases in a 7% (95% CI: 1%; 12%) adjusted for known confounders. The prevalence of ECC in children with poor oral hygiene was 3.73 times than those with good oral hygiene, with a 95% CI of 2.09 to 6.55. In addition, the prevalence of ECC in children who consumed sweets more than 2 times daily was 1.19 times than those who did not consume sweets, (95% CI; 1.01,1.40).

**Conclusions.** There is an inverse association between BMI for current age and early childhood caries.

**Keywords:** Dental Caries, Child, Preschool, Nutritional Status.

## **1.1 Introducción**

Los primeros 1000 días de vida del niño es el periodo que incluye la concepción y los dos primeros años de vida, considerando los 270 días de gestación, los 365 días del primer año y los 365 días del segundo año de vida). Este lapso es crucial para el crecimiento y desarrollo infantil (42), por ello, el estado nutricional es relevante en este periodos de la vida, pues es producto de la suma del balance entre el ingreso, la absorción y el metabolismo de los nutrientes y las necesidades del individuo (42–45). Asimismo, durante la infancia, la adecuada ingesta de alimentos es importante para un óptimo crecimiento; pues el riesgo de malnutrición en esta etapa de la vida es alto (43–45).

Por otro lado, la caries dental es un afección en la salud bucal con una alta prevalencia a nivel mundial(1) definida como un problema dinámico, multifactorial, intermediado por la placa dental e impulsada por los azúcares, que da lugar a la desmineralización y remineralización de los tejidos duros del diente, la cual está ocasionada por aspectos biológicos, conductuales y psicosociales relacionados con el entorno del individuo. Esta enfermedad tiene repercusiones en la salud afectando la calidad de vida no solo del niño sino también de su entorno (46). Cuando afecta a los niños que presentan menos de 6 años de edad es conocida como caries de infancia temprana (CIT) (1,46–48).

En el Perú, la alteración del estado nutricional y la CIT son problemas de salud pública, reportándose en el 2023 una prevalencia de desnutrición crónica del 11.5%, obesidad y sobrepeso del 9.1% en menores de 5 años de edad (12). Además, el Perú es el país de América del Sur con mayor prevalencia de CIT no tratada (47).

La salud bucal y el estado nutricional comparten una relación interdependiente (14,49). Así, se han reportado posibles efectos como alteraciones en el desarrollo dental, variaciones en la cronología de erupción dental y la exacerbación de enfermedades infecciosas bucales (14). Además, pueden presentarse en algunos casos secuelas poco frecuentes, aunque graves como la celulitis orbital, abscesos cerebrales y fiebre recurrente inexplicables (50–53). Asimismo, se han reportado alteraciones en el crecimiento y el desarrollo de los huesos faciales, y se ha relacionado con una reducción en la longitud de la base del cráneo y la altura de la mandíbula (53). Otro efecto descrito es la alteración de las estructuras dentales, que podría ocasionar defectos del esmalte proporcionado que podría aumentar la susceptibilidad a la desmineralización y desarrollo de lesiones de caries dental (53–55).

Sin embargo, el efecto más directo de la nutrición en la cavidad bucal estaría relacionado a la acción local de una dieta rica en azúcares, formando una placa dental que aumentaría la susceptibilidad a la formación de lesiones de caries dental (14,53), pues la desmineralización de la estructura del diente es debido directamente por bacterias patógenas que degrada los carbohidratos de la dieta. Luego de consumir carbohidratos, sobre todo sacarosa, el pH de la placa dental cae rápidamente hasta 5 o menos. La disminución del pH salival conduce a un microbioma simbiótico que se distingue por un incremento en la proporción de microorganismos ácidos en la placa dental y variación en la composición de la matriz de la placa (1,53), el cual sería exacerbado por la presencia de una mala higiene bucal (14); y en consecuencia, daría lugar a una de las condiciones bucales más prevalentes en el mundo que es la caries dental(1,4).

A pesar de que la evidencia acumulada indica que la caries dental afecta negativamente el estado nutricional y el crecimiento de los niños (17,18,24), la naturaleza de esta relación sigue siendo controversial, tanto en términos de la dirección como de sus factores subyacentes (18,56). Así tenemos que Ismail et al. hallaron que los niños con mayor peso para la edad presentaron una superior cantidad de lesiones cariosas en contraste que los niños con menor peso para la edad (57). Por el contrario, se han hallado estudios con asociación inversa como el de Sanchez-Perez et. al. quienes encontraron que niños con obesidad presentaron menor cantidad de lesiones de caries dental (58). En otros estudios se encontraron algunos patrones no concluyentes entre caries dental y medidas antropométricas (17,18,26,59–62). Li et al. y Chen et al. recomiendan que se utilicen tamaños de muestra adecuados y se unifiquen los criterios para la definición operacional de las variables (categorización de los índices de caries dental y de medidas antropométricas (18,19). Además, se deben evaluar factores de confusión como el sexo, los hábitos alimentarios, los hábitos de higiene bucal y el nivel socioeconómico (19,28,63).

En el Perú existen pocos estudios publicados que han determinado la asociación entre el estado nutricional y caries dental en el grupo infantil. Al respecto, Álvarez et al. (1993), realizaron tres estudios(22–24), siendo uno de corte longitudinal, desde los 6 o 11 meses hasta los 4 años, encontrando que la desnutrición crónica podría afectar a los dientes primarios, convirtiéndolos en más susceptibles a caries dental a lo largo de la vida de la persona, considerando, además, una posible relación causa-efecto (24).



Por otro lado, existen revisiones sistemáticas que han reportado una relación significativa entre caries dental y obesidad (43) y desnutrición en niños (69). Asimismo, un estudio transversal concluyó que los niños/adolescentes con sobrepeso/obesidad tuvieron menor experiencia de caries dental (64). Sin embargo, otras investigaciones transversales han concluido que niños con sobrepeso/obesidad o bajo peso/desnutridos tendrían una mayor cantidad de lesiones de caries (68) y que la desnutrición está relacionada a una mayor experiencia de caries dental en dientes primarios (70).

Si bien los estudios realizados por Álvarez en la década de los 90 ofrecen una evidencia respecto a la asociación entre desnutrición y problemas de salud bucal, estos estudios se realizaron en un contexto en el que la desnutrición era un problema más grave que lo que es actualmente y, por otro lado, todavía hay controversia respecto a otros indicadores nutricionales. Por este motivo, el presente estudio brinda datos relevantes, pues aborda las posibles consecuencias del estado nutricional en relación con la caries dental en la dentición primaria de la población de estudio. Además, ofrece información sobre las medidas antropométricas a la edad de la evaluación odontológica, y de los dos primeros años.

Así, el propósito de la presente investigación es determinar la asociación entre el estado nutricional previo y actual y la caries de infancia temprana en niños de 3 a 5 años en una zona periurbana de Lima, Perú.

## **1.2 Pregunta de Investigación:**

¿Existe asociación entre el estado nutricional y la CIT en niños de 3 a 5 años de una zona periurbana de Lima?

### **1.3 Objetivo:**

Evaluar la asociación entre el estado nutricional y la CIT en niños de 3 a 5 años que residen en el distrito de Villa El Salvador.

### **1.4 Materiales y Métodos:**

#### **1.4.1 Diseño**

La presente investigación es un estudio observacional, analítico en el que se realiza una colección de datos transversales de medidas antropométricas, estado de CIT de niños entre 3 y 5 años. Adicionalmente, se recolectó muestras biológicas para la investigación. Asimismo, se obtuvo información del estudio de tablas (denominado en adelante estudio madre): datos antropométricos al año y dos años.

En cuanto al presente estudio obtuvo la aprobación del Comité de Ética Institucional de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (CIE-UPCH), con registro de SIDISI N.º 200714. (Anexo 1)

#### **1.4.2 Población**

Niños con edades de 3 a 5 años, que formaron parte del estudio madre, residentes en los sectores VII, IX, X y XI en el distrito de Villa El Salvador, uno de los distritos de Lima con mayor población. En este distrito, el porcentaje de personas que vive en pobreza está entre 20.2% y 25.4% con un 95% de confianza, según el INEI (55).

##### **1.4.2.1 Criterios de selección**

**a. Criterios de inclusión:**

- Niños entre los 3 a 5 años participantes del estudio madre
- Residentes del distrito Villa El Salvador al momento del reclutamiento.
- Niños sin alteraciones mentales, psicológicas para poder realizar la evaluación bucal.

**b. Criterios de exclusión**

- Madre/Apoderado legal del menor que no firme el consentimiento informado.
- Niño (a) que no colabora a pesar de tener el consentimiento informado por los padres.

**1.4.3 Muestreo**

**1.4.3.1 Tipo de muestreo**

El muestreo fue por conveniencia, seleccionando a los participantes a partir de los datos del estudio madre donde 249 niños culminaron el seguimiento hasta los 2 años; siendo contactados y evaluados, 204 participantes para el presente estudio.

**1.4.4 Procedimientos del estudio**

**1.4.4.1 Preparación**

Se procedió a realizar una prueba piloto, cuyo objetivo fue la calibración, capacitación y entrenamiento a la investigadora sobre las condiciones orales a estudiar. La Dra. Evelyn Álvarez Vidigal, con más de 20 años de experiencia en Odontopediatría, lideró la calibración teórica mediante el

uso de fotos clínicas y videos del índice ICDAS II para identificar la CIT en estudio. La investigadora se entrenó y calibró en 4 sesiones de 4 horas cada una a lo largo de una semana, en días diferentes. La parte práctica incluyó la evaluación bucal de 10 niños con características similares a la población del estudio, utilizando los mismos criterios e índices. La evaluación fue realizada por la investigadora, con el consentimiento informado de las madres/cuidadoras (Anexo 2), que participaron en el piloto, pero fueron excluidas del estudio principal. Se verificó una muy buena concordancia inter-examinador e intra-examinador con un índice Kappa de Cohen  $> 0.80$ .

Luego, se elaboraron cuestionarios para coleccionar datos sociodemográficos y de salud del niño, de hábitos de salud bucal y dieta cariogénica a cargo de la investigadora y de la Lic. Lilia Cabrera (Anexo 3), enfermera con más de 30 años de experiencia en estudios poblacionales (ONG PRISMA). Así como también se elaboró la ficha de recolección de información clínica odontológica. (Anexo 3) Posteriormente, el cuestionario de hábitos de higiene bucal y dieta cariogénica fue sometido a la validación respectiva: comprendiendo en primer lugar a la validez del contenido por medio de un juicio de expertos (6 expertos: 4 odontopediatras, 1 odontólogo estadístico y 1 odontólogo educador) para determinar la pertinencia de las preguntas que fueron de tipo cerradas (56,57), se evaluó la validez de contenido por medio de V de Aiken obteniéndose valor de 0.93 (Anexo 4) y la confiabilidad del instrumento mediante la consistencia interna realizada a

través del Alpha de Cronbach, fue obtenido un valor de 0.703, resultando aceptable.

Una técnica de enfermería de la ONG Prisma entrenada y capacitada (entidad que tuvo a su cargo la ejecución del estudio de la cohorte de nacimiento) fue la responsable de realizar el cuestionario para coleccionar los datos sociodemográficos a las madres/cuidadores y de realizar los cuestionarios de hábitos de salud bucal y dieta cariogénica. El entrenamiento dado a la técnica fue para la aplicación del cuestionario con respecto a la lectura y entonación de las preguntas del instrumento, así como también con relación a la postura y a la expresión facial, pues esta última fue de manera neutral, al momento de realizar las preguntas. Se realizó la capacitación en 2 sesiones en una semana, con un periodo de 1 hora cada una, realizadas en días diferentes de la semana.

#### **1.4.4.2 Enrolamiento**

Una vez que se verificó el consentimiento de la madre y/o apoderado legal del estudio madre para la participación en posteriores estudios, se procedió a visitar los domicilios invitando a participar y explicando detalladamente el contenido del consentimiento informado del presente estudio. Si la madre y/o apoderado legal aceptaba la participación del menor, el consentimiento informado era firmado para proceder con las coordinaciones del estudio para no interferir sus actividades diarias.

#### **1.4.4.3 Recolección de datos**

Se realizaron las evaluaciones de los participantes en un promedio de 7 niños al día. Cada evaluación clínica oral se realizó en un tiempo de 10 minutos, la recolección de muestras biológicas en 3 minutos, y la aplicación de los cuestionarios en 10 minutos. Sin embargo, esto varió debido a la disponibilidad de los participantes y/o el grado de colaboración del niño(a).

##### *a. Cuestionarios*

Se aplicó el cuestionario de preguntas cerradas relacionado a los hábitos de higiene oral y dieta cariogénica a la madre y/o apoderado legal del participante (Anexo 3). Además, se obtuvo datos sobre: edad y sexo del niño, salud general, la edad, sexo, estado civil, nivel de educación de la madre e ingreso familiar mensual. Finalmente, se aplicó la encuesta del índice de pobreza *Poverty Probability Index* (PPI®)(65), el cual es un instrumento que sirve para medir la pobreza, es de fácil uso y comprende 10 preguntas sobre las características y propiedad de bienes de un hogar, que dan un puntuación para calcular la probabilidad de que el hogar se encuentre por debajo de la línea de pobreza(65) (Anexo 5) Los cuestionarios, fichas de información del niño y PPI® fueron codificados y fueron ingresados por un digitador de la ONG Prisma.

### *b. Evaluación del estado nutricional*

Los niños fueron medidos en centímetros y pesados en kilogramos de acuerdo a las pautas y recomendaciones de la OMS (66). Estas mediciones fueron realizadas por la técnica de enfermería, quien también estuvo encargada de las evaluaciones del estudio madre (Anexo 6). Los datos de la talla y peso del niño al año y 2 años fueron extraídos de los bases de datos del estudio madre.

Los datos de peso y talla se convirtieron posteriormente en puntajes z, los indicadores antropométricos que se utilizaron en el presente estudio fueron los siguientes:

- Talla para la edad: al año, a los dos años y a la edad de la evaluación bucal(13).
- Peso para la talla: al año y a los dos años(13).
- Peso para la edad: al año y a los dos años(13).
- IMC para la edad: a la edad de la evaluación bucal.(13).

### *c. Evaluación clínica oral*

Previo a la evaluación clínica, se recolectó las muestras biológicas (placa dental y saliva), teniendo en cuenta las guías sobre bioseguridad (se detalla en el ítem de recolección de datos). Los exámenes clínicos intraorales se realizaron de acuerdo a los criterios de la OMS (67), en un ambiente proporcionado por el cuidador en su hogar, previo acuerdo con la madre/cuidador. El examen intraoral fue realizado de manera visual por medio de un espejo bucal plano N°5, con sondas periodontales OMS y con un frontoluz, previamente se cepillaron los dientes y reforzado con una gasa

estéril antes de ser evaluado cada diente; (Anexo 6). A continuación, se describe cómo se realizó la recolección referente a las condiciones bucales:

#### Higiene oral:

La higiene oral fue evaluada a través del índice de placa dental visible de Silness y Løe modificado (75) examinando los dientes referenciales: 51, 63, 84 y los cuatro segundos molares de cada lado de la arcada. Se observaron la cara: vestibular, lingual/palatino, mesial, distal; además se examinó la cara oclusal(20). Se utilizó la puntuación de cero cuando hay placa y uno cuando si existe indicio de placa dental voluminosa, esto que es fácilmente evidente por ser de espesura notable, o pasar una sonda delicadamente que evidencia placa. Los niveles de higiene oral considerados fueron: buena (0% a 15%), regular (16% a 30%) y deficiente (>30%) (20).

#### Caries Infancia temprana (CIT):

Se evaluó utilizando el índice ICDAS II

El índice ICDAS II (46,68,69), umbral visual, nos permite detectar lesiones cariosas en sus fases iniciales, así como también su extensión y actividad de la misma. Los dientes fueron examinados antes y después de secarse con gasas estériles (Anexo 6). Las condiciones para cada valor se definen como lo siguiente: “cero cuando el diente sano, uno cuando presenta mancha blanca y/o marrón en esmalte seco, dos cuando presenta mancha blanca y/o marrón en esmalte húmedo, tres cuando presenta micro cavidad en esmalte seco menor a 0.5mm., cuatro cuando presenta sombra oscura de dentina vista a través de esmalte con humedad con/sin micro cavidad, cinco cuando



presenta exhibición de dentina en cavidad superior a 0.5mm. hasta la mitad de la superficie del diente seco y seis cuando presenta exhibición de dentina en cavidad superior a la mitad de la superficie del diente” (40,70,71).

*d. Muestras biológicas*

La recolección y conservación de muestras biológicas para la investigación 2, (se detalla en el ítem 1.4.4.3. Recolección de datos; sub ítem d. Muestras biológicas) estuvo a cargo de la investigadora y de la técnica de enfermería, previamente capacitadas y entrenadas para esta labor, teniendo en cuenta las medidas de bioseguridad por la pandemia. Las muestras biológicas fueron trasladadas desde Villa El Salvador al laboratorio de Microbiología Molecular ubicado en los Laboratorios de Investigación y Desarrollo (LID) de la UPCH en San Martín de Porres en refrigeración para su posterior almacenamiento a una temperatura de -80° hasta su procesamiento.

Obtención de las muestras biológicas:

A la madre y/o apoderado legal se le dio instrucciones de no cepillarle los dientes una noche antes a la toma de la muestra, así como también de que el niño no coma o tome bebidas dos horas antes de la colectade muestra (29).

\* Muestra de saliva:

La toma de muestra estuvo a cargo de la técnica de enfermería, puesto ya tenía amplia experiencia en recolectar muestras de salivas, pues fue realizado a lo largo del estudio madre. La recolección de la muestra se detalla en el estudio 2). Esta muestra de saliva no estimulada se reconoce como una representación de

todo el ecosistema oral; se colectó en tubos de microcentrífuga de 2 ml (Anexo 6).

\* Muestra de placa dental:

La toma de muestras de placa dental estuvo a cargo de la investigadora, una vez tomadas se colocó en tubos de microcentrífuga de 2 ml con 200  $\mu$ l de PBS 1x estéril(69,72). Más detalle, en la recolección de la muestra en el estudio 2 (Anexo 6)

El pH salival se midió inmediatamente luego de la colección, utilizando un medidor digital de pH portátil (LAQUAtwin B-722; Horiba Instruments Inc., Irvine, CA) (73). Se agregó 1 gota de saliva en el sensor del instrumento, se calibró a cada término del día de evaluación siguiendo las instrucciones del fabricante.

### **Supervisión y monitoreo de actividades**

La supervisión y el monitoreo fue realizado por la investigadora. La evaluación clínica oral y recolección de placa dental fueron realizadas por la misma investigadora. Las medidas antropométricas, cuestionarios y fichas e índices PPI fueron realizados por la técnica de enfermería y en ocasiones con ayuda de un colaborador (estudiante de odontología del último año de estudios de pregrado). Se realizó una reunión semanal con la asesora para evaluar los avances.

### 1.4.5 Variables de estudio

#### **Variable dependiente: CIT(18,74)**

- Evaluada según el índice ICDAS II, éste nos permite evaluar las lesiones cariosas en sus fases iniciales.
- Tipo y escala de variable: categórica, dicotómica, nominal.
- Categorías: Ausencia = ICDAS 0, Presencia=ICDAS 1-6 (75).

#### **Variable independiente: Estado nutricional(13)**

El estado nutricional fue evaluado mediante los indicadores antropométricos según el Minsa del Perú para niñas y niños menores de 5 años y dado que algunos niños superaban los 5 años y 29 días, se consideró también la clasificación para niños de 5 a 11 años(13), de acuerdo a lo siguiente:

- Peso para la talla: al año, y dos años (datos proporcionados por el estudio madre). Categorizado: bajo peso, normal, sobrepeso y obesidad (Tabla 1). Tipo de variable: categórica, politómica, ordinal.
- Talla para la edad: para niños menores de 5 años. Categorizado como talla baja severa, desnutrición crónica y normal (Tabla 1). Tipo de variable: categórica, politómica, ordinal.
- IMC para la edad: para niños de 3 a 5 años, pues este indicador no es sugerido para niños de 1 a 2 años; en los últimos se recomienda peso para la talla(76). Tipo de variable cuantitativa continua, razón.

#### **Otras variables:**

- **Edad del niño (61,74,77):** Estimado a partir de la fecha de nacimiento indicada en el DNI del menor, expresado en años. Obtenido de la base de datos del estudio madre.

Tipo de variable: cuantitativa, continua, de razón.

- **Sexo del menor** (20,61,78): obtenido a partir de la información consignada en el DNI del menor. Obtenido de la base de datos del estudio madre.

Tipo de variable: categórica, dicotómica, nominal

Categorías: femenino y masculino.

- **Sexo de la madre/apoderado** (20,74,77): Obtenido a partir de la información consignada en el DNI de la persona. Obtenido de la base de datos del estudio madre.

Tipo de variable: categórica, dicotómica, nominal

Categorías: femenino y masculino.

- **Nivel de educación de la madre/apoderado** (56,61,77–79): obtenido del cuestionario aplicado en el presente estudio.

Tipo de variable: categórica, politómica, ordinal.

Categorías: primaria, secundaria, técnica y superior.

- **Ingreso familiar mensual** (20,80,77,78): información obtenida de la madre/apoderado obtenido del cuestionario.

Tipo de variable: cuantitativa, continua, de razón.

- **Hábitos de salud bucal** (56,74,78,81,82): obtenido del cuestionario de salud bucal

Tipo de variable: categórica, politómica o dicotómica y, nominal u ordinal.

Categorías: según las opciones de respuestas (Anexo 3).

- **Nivel de higiene bucal**(20,75,83), según el índice de placa dental evidente de Silness y Løe modificado.

Categorías: bueno, regular y deficiente.

Tipo de variable: categórica, politómica, ordinal.

- **Pobreza según el índice PPI®(83,84):** índice que mide la probabilidad de pobreza en el hogar.

Tipo de variable: cuantitativa, discreta, ordinal.

- **Dieta cariogénica(74,78,82,85–87):** información obtenida del cuestionario sobre dieta cariogénica.

Tipo de variables: categórica, politómica, nominal

Categorías: según las opciones de respuestas (Anexo 3).

- **pH salival(88,89):** medida por un pH metro portátil.

Tipo de variable: cuantitativa, continua, razón.

#### **1.4.6 Procesamiento y análisis estadístico**

Para cada variable categórica, se calculó frecuencias absolutas y relativas; para las variables cuantitativas, se calculó medidas de tendencia central (media o mediana) y de dispersión (desviación estándar, rango intercuartílico), según corresponda.

Para realizar el análisis bivariado entre CIT, talla para la edad, nivel de higiene bucal y consumo de golosinas al día (variables categóricas) se aplicó la prueba de chi-cuadrado o, en el caso necesario, la prueba exacta de Fisher. Para evaluar la asociación entre CIT y el puntaje z del IMC para la edad y las variables cuantitativas, previamente, se evaluó la normalidad de los datos, por ello se realizó prueba de hipótesis no paramétrica Mann Whitney con las variables puntaje de pobreza según el índice PPI, pH salival e ingreso familiar mensual. Se estimó a un nivel significancia de dos colas inferior a 0.05 para rechazar la hipótesis nula. Debido que

algunas características se modificaron durante la pandemia, se realizó el análisis de homogeneidad de Mantel-Haenszel para evaluar la posible modificación de efecto de la pandemia de la asociación del estado nutricional y CIT.

La magnitud de la asociación entre el estado nutricional y la CIT se estimó mediante el cálculo de razones de prevalencia (PR) ajustadas por variables confusoras (Figura 1), aplicando el análisis de regresión logística múltiple. Se reportó sus intervalos de confianza al 95%. Para el cálculo de las PR ajustados, se modeló con aquellas variables con un valor  $p < 0.20$  en el análisis bivariado o aquellas determinadas como confusoras (20,56,77,78,82,86).

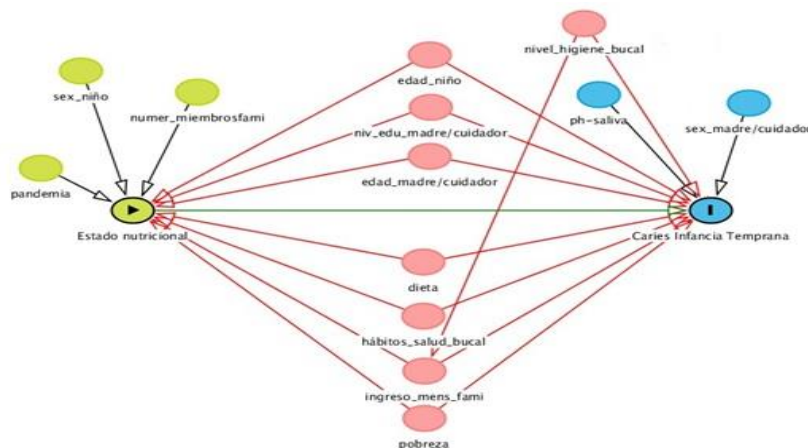


Figura 1. DAG de la asociación entre estado nutricional y CIT que permite identificar las variables de confusión, y establecer posibles relaciones.

### a. Potencia estadística

Como se trató de un estudio con un número predefinido de participantes, se consideró adecuado hacer el cálculo de la potencia considerando los 204 niños participantes y teniendo en consideración la siguiente información:

la prevalencia de caries dental en niños con desnutrición crónica fue reportada en 36.0%, con obesidad 3.0% y con sobrepeso de 5.0% y con estado nutricional normal fue 56.0% (79); considerando un nivel de significancia de 5%. Presentando en el caso de la comparación entre prevalencia de caries en niños con nutrición normal versus desnutrición crónica un poder estadístico de 82%, versus sobrepeso de 100% y versus obesidad de 100%. (Anexo 7) Los cálculos se realizaron usando el programa estadístico STATA versión 17.

## 1.5 Resultados

El presente estudio se evidenció que el 59.3% de niños fueron evaluados en el primer periodo (Febrero a Marzo 2020) y el 40.7% fueron en el segundo periodo (Agosto 2021). En la figura 2, se aprecia el proceso de selección de participantes del estudio.

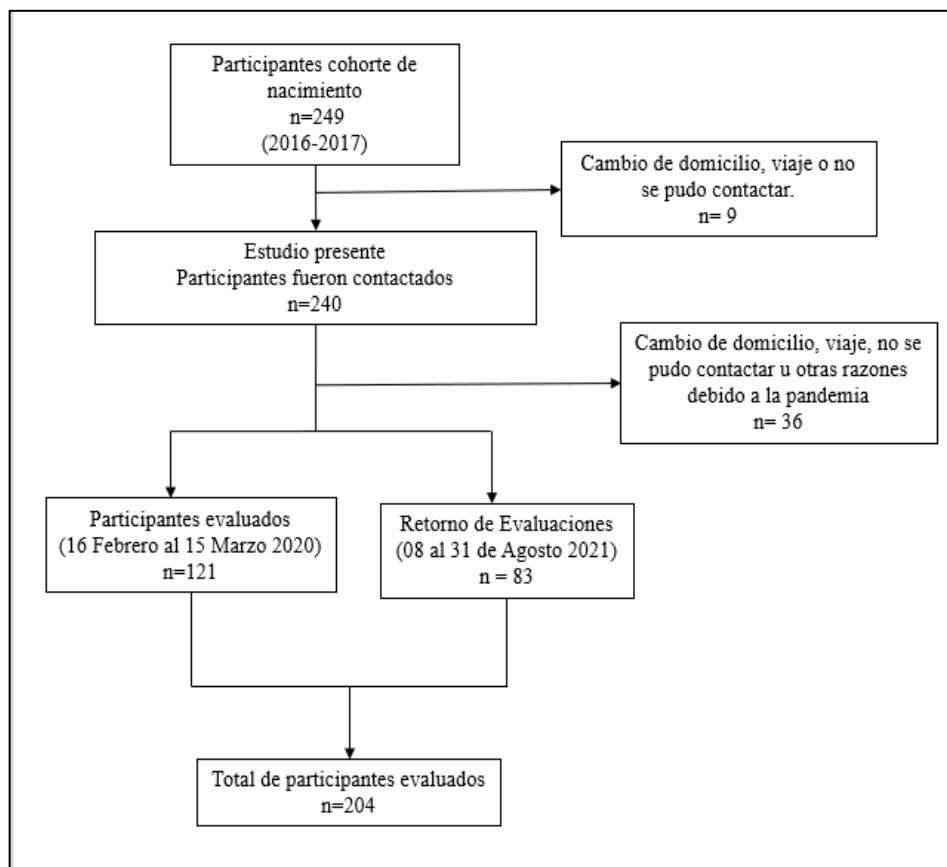


Figura 2. Diagrama de flujo del estudio 1.



### 1.5.1.1 Características sociodemográficas de la población de estudio.

De un total de 204 niños, 49.5% fue de sexo masculino y 50.5% femenino. El promedio de edad en meses de los niños fue  $48.1 \pm 10.1$ . El 43% de los niños tenía 4 años y fueron mayoría. Con respecto, al promedio de edad en años de la madre/cuidadora fue de  $32.8 \pm 6.7$ , y su nivel de educación fue secundaria con un 66.7%. Por otro lado, sobre la pobreza, la mediana de puntaje utilizando el Índice de Probabilidad de Pobreza (PPI) fue de  $45.0 \pm 20.5$ . (Tabla 2)

Tabla 2. Características de los niños entre los 3 a 5 años del distrito de Villa El Salvador, Perú (n=204).

Características	1° Periodo (n=121) n (%)	2° Periodo (n=83) n (%)	Total (n= 204) n (%)
Sexo del Niño			
Masculino	58 (47.9)	43 (51.8)	101 (49.5)
Femenino	63 (52.1)	40 (48.2)	103 (50.5)
Edad del niño (años)			
3 años	77 (63.6)	0 (0.0)	77 (37.8)
4 años	44 (36.4)	44 (53.0)	88 (43.1)
5 años	0 (0.0)	39 (47.0)	39 (19.1)
Edad del cuidador (años)*	$33.1 \pm 6.6$	$32.4 \pm 6.7$	$32.8 \pm 6.7$
Nivel de educación del cuidador			
Primaria	11 (9.1)	5 (6.0)	16 (7.8)
Secundaria	84 (69.4)	52 (62.7)	136 (66.7)
Técnica	20 (16.5)	20 (24.1)	40 (19.6)
Superior	6 (5.0)	6 (7.2)	12 (5.9)
Ingreso familiar mensual*	$1040.6 \pm 525.0$	$1045.7 \pm 507.1$	$1042.6 \pm 516.5$
Puntaje de Pobreza según PPI (Puntuación Total) **	$42.0 \pm 20.0$	$48.0 \pm 21.0$	$45.0 \pm 20.5$

\* Media  $\pm$  desviación estándar

\*\* Mediana  $\pm$  Rango Intercuartil.

### 1.5.1.2 Características de los hábitos de salud bucal.

Con relación a los hábitos de higiene bucal, encontramos que el 55.9% inició el cepillado dental entre los 13 a 24 meses de edad. El cepillado dental fue realizado dos o más veces al día, esto significó en un 63.2% de los niños. El 90.2% de las madres /cuidadoras supervisaba el cepillado de los dientes de sus hijos. Sobre la atención odontológica, encontramos que el principal motivo de la visita fue por revisión dental (34.3%) Con respecto al consumo de golosinas, el 37.8% los consume una vez al día. (Tabla 3).

Tabla 3. Características de los hábitos de salud bucal de la población de estudio.

<b>Hábitos de salud bucal y dieta cariogénica</b>	<b>1° Periodo (n=121) n (%)</b>	<b>2° Periodo (n=83) n (%)</b>	<b>Total n (%)</b>
Edad de inicio de cepillado dental (meses)			
≤ 12 meses	47 (38.8)	22 (26.5)	69 (33.8)
13 - 24 meses	68 (56.2)	46 (55.4)	114 (55.9)
>24 meses	6 (5.0)	15 (18.1)	21 (10.3)
Frecuencia de cepillado dental diario			
No cepillado/ 1 vez	52 (43.0)	23 (27.7)	75 (36.8)
2 o más veces	69 (57.0)	60 (72.3)	129 (63.2)
Uso de pasta dental con flúor (1000 ppm)			
<1000 ppm	59 (48.8)	32 (38.6)	91 (44.6)
>1000 ppm	62 (51.2)	51 (61.4)	113 (55.4)
Supervisión de cepillado dental de la madre/cuidadora			
No	13 (10.7)	7 (8.4)	20 (9.8)
Si	108 (89.3)	76 (91.6)	184 (90.2)
Visita al odontólogo (hasta el presente)			
No	62 (51.2)	43 (51.8)	105 (51.5)
Sí	59 (48.8)	40 (48.2)	99 (48.05)
Motivo de la primera visita al odontólogo			
No asistieron	62 (51.2)	43 (51.8)	105 (51.5)
Dolor	1 (0.8)	6 (7.2)	7 (3.4)
Revisión	46 (38.1)	24 (28.9)	70 (34.3)
Tratamiento	12 (9.9)	10 (12.1)	22 (10.8)
Frecuencia de consumo de golosinas al día			
A veces/ Nunca	34 (28.1)	36 (43.4)	70 (34.3)
1 vez	46 (38.0)	31 (37.4)	77 (37.8)
2 o más veces	41 (33.9)	16 (19.2)	57 (27.9)

### 1. 5. 1. 3. Características de las condiciones bucales en la población estudiada.

Las condiciones bucales fueron estudiadas, observando que el nivel de higiene bucal según el índice Silness-Löe modificado fue deficiente siendo el 44.1%. Sobre la CIT según el ICDAS II, la prevalencia fue de 75%. Con relación al pH salival en los niños de 3 a 5 años encontramos que el promedio fue de  $8.1 \pm 1.7$ . (Tabla 4)

Tabla 4. Características de condiciones bucales en la población de estudio.

Condiciones bucales	1° Periodo (n=121)	2° Periodo (n=83)	Total (n= 204)
	n (%)	n (%)	n (%)
Nivel de higiene bucal según Índice Silness-Löe modificado			
Bueno	13 (10.7)	20 (24.1)	33 (16.2)
Regular	68 (56.2)	13 (15.7)	81 (39.7)
Deficiente	40 (33.1)	50 (60.2)	90 (44.1)
CIT según Índice ICDAS II			
Ausencia	27 (22.3)	24 (28.9)	51 (25.0)
Presencia	94 (77.7)	59 (71.1)	153 (75.0)
pH salival	$8.5 \pm 1.6$	$7.6 \pm 1.8$	$8.1 \pm 1.7$

\*Media  $\pm$  Desviación estándar.

#### 1. 5. 1. 4. Características del estado nutricional en la población estudiada.

Se observó una ligera disminución en la desnutrición crónica, medida por el indicador talla para la edad, a lo largo del tiempo: 10.3% en el primer año, 9.3% a los dos años y 8.8% en la edad de evaluación bucal. En cuanto al sobrepeso y la obesidad, medidos por el indicador peso para la talla en niños de 1 y 2 años, se encontró que al 1 año el sobrepeso era del 10.3% y la obesidad del 2.4%, mientras que a los 2 años estos valores disminuyeron a 6.9% y 0.9%, respectivamente. En la edad de la evaluación bucal, el indicador preferido fue el puntaje z de IMC para la edad, con un promedio de 0.9, ligeramente menor al año (1.1) y dos años (1.0) (Tabla 5)

Tabla 5. Características del estado nutricional en la población de estudio.

<b>Indicador Antropométrico</b>	<b>1 año</b>	<b>2 años</b>	<b>3-5 años</b>
<b>Talla para la Edad</b>			
Talla baja severa	3(1.5)	1(0.5)	1(0.5)
Desnutrición crónica	21(10.3)	19(9.3)	18(8.8)
Normal	180(88.2)	184(90.2)	185(90.7)
Talla alta	0 (0.0)	0(0.0)	0(0.0)
<b>Peso para la Talla</b>			
Bajo peso severo	0(0.0)	0(0.0)	
Desnutrición aguda	0(0)	0(0)	
Normal	178(87.3)	188(92.2)	
Sobrepeso	21(10.3)	14(6.9)	
Obesidad	5(2.4)	2(0.9)	
<b>Peso para la Edad</b>			
Bajo peso severo	0(0)	0(0)	
Bajo peso	2(1.0)	2(1.0)	
Normal	197(96.5)	199(97.6)	
Sobrepeso	5(2.5)	3(1.4)	
<b>Puntaje z de IMC para la Edad</b>			<b>0.9 ± 1.1</b>
Media ± Desviación Estándar			

### **1. 5. 1. 5. Asociación de la caries de infancia temprana y covariables.**

En el primer período, se observó que la supervisión del cepillado dental por la madre o cuidadora fue del 100% en niños sin CIT, en comparación con aquellos con CIT presentando un 86.2%, hubo una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.019$ ). El 33.0% de los niños sin CIT acudieron al odontólogo por motivo de consulta, en contraste con el 55.6% de los niños con CIT. Esta diferencia resultó ser estadísticamente significativa ( $p=0.048$ ). El 58.2% de los niños con CIT tuvo un nivel de higiene bucal deficiente, en comparación con solo el 2% de los niños sin CIT, con una diferencia estadísticamente significativa ( $p<0.001$ ), tabla 6.

En el segundo período, el 83.1% de los niños con CIT registraron un nivel regular de higiene bucal, comparado con el 4.2% de los niños sin CIT, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p<0.001$ ) (Tabla 6).

En la evaluación bucal, el 98% de los niños sin CIT tuvieron supervisión de cepillado por la madre/cuidador, en comparación con los niños con CIT (87.6%), mostrando una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.029$ ). El 36.6% de los niños con CIT consumía golosinas diariamente, frente al 41.2% de los niños sin CIT, con una diferencia significativa ( $p=0.024$ ). El nivel de higiene bucal deficiente se encontró en el 58.9% de los niños con CIT, comparado con el 2% en niños sin CIT, siendo estos resultados estadísticamente significativos ( $p<0.001$ ) (Tabla 6)

Tabla 6. Factores asociados a Caries de Infancia Temprana y Estado Nutricional en análisis bivariado.

Variables	1° Periodo (n=121)		<i>P</i>	2° Periodo (n=83)		<i>P</i>	Total (n=204)		<i>P</i>
	Caries de Infancia Temprana según ICDAS II			Caries de Infancia Temprana según ICDAS II			Caries de Infancia Temprana según ICDAS II		
	Ausencia n (%)	Presencia n (%)	Ausencia n (%)	Presencia n (%)	Ausencia n (%)	Presencia n (%)			
	27 (22.3%)	94 (77.7%)		24 (28.9%)	59 (71.1%)		51 (25.0%)	153 (75.0%)	
Sexo del Niño			0.980 <sup>a</sup>			0.834 <sup>a</sup>			0.936 <sup>a</sup>
Masculino	13 (51.9)	49 (52.1)		12 (50.0)	28 (47.5)		25 (49.0)	76 (49.7)	
Femenino	14 (48.1)	45 (47.9)		12 (50.0)	31 (52.5)		26 (51.0)	77 (50.3)	
Edad del niño			0.409 <sup>c</sup>			0.112 <sup>c</sup>			0.717 <sup>a</sup>
3 años	19 (70.4)	36 (38.3)		0 (0.0)	0 (0.0)		19 (37.3)	58 (37.9)	
4 años	8 (29.6)	58 (61.7)		16 (66.7)	28 (47.5)		24 (47.1)	64 (41.8)	
5 años	0 (0.0)	0 (0.0)		8 (33.3)	31 (52.5)		8 (15.6)	31 (20.3)	
Edad del cuidador (años)	32 ± 6.7	33.4 ± 6.6	0.339 <sup>b</sup>	31.5 ± 7.5	32.7 ± 6.4	0.482 <sup>b</sup>	31.8 ± 0.9	33.1 ± 0.5	0.215 <sup>b</sup>
Nivel de educación del cuidador			0.433 <sup>c</sup>			0.806 <sup>c</sup>			0.809 <sup>c</sup>
Primaria	2 (7.4)	9 (9.6)		1 (4.2)	4 (6.8)		3 (5.9)	13 (8.5)	
Secundaria	18 (66.7)	66 (70.2)		17 (70.8)	35 (59.3)		35 (68.6)	101 (66.0)	
Técnica	4 (14.8)	16 (17.0)		5 (20.8)	15 (25.4)		9 (17.7)	31 (20.3)	
Universitaria	3 (11.1)	3 (3.2)		1 (4.2)	5 (8.5)		4 (7.8)	8 (5.2)	
Ingreso familiar mensual	1060.4 ± 472.9	1034.89 ± 541.2	0.669 <sup>b</sup>	953.3 ± 374.3	1083.22 ± 550.4	0.531 <sup>b</sup>	1010.0 ± 60.0	1053.5 ± 43.9	0.859 <sup>b</sup>
Pobreza									
Puntaje de Pobreza según PPI (Puntuación Total) *	45.6 ± 16.3	43.0 ± 13.1	0.485 <sup>b</sup>	50.0 ± 11.4	44.9 ± 13.9	0.112 <sup>b</sup>	47.7 ± 2.0	43.8 ± 1.1	0.081 <sup>b</sup>

\* Mediana ± Rango intercuartil; a: Prueba chi cuadrado; b: Prueba Mann Whitney; c: Prueba de Fisher.

## Continuación

Variables	1° Periodo (n=121)		<i>p</i>	2° Periodo (n=83)		<i>p</i>	Total (n=204)		<i>p</i>
	CIT- Índice ICDAS II			CIT-Índice ICDAS II			CIT-Índice ICDAS II		
	Ausencia	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Presencia			
	27 (22.3%)	94 (77.7%)		24 (28.9%)	59 (71.1%)		51 (25.0%)	153 (75.0%)	
Hábitos de salud bucal									
Frecuencia de cepillado dental (día)			0.790 <sup>a</sup>			0.429 <sup>a</sup>			0.356 <sup>a</sup>
No cepillado/ 1 vez	11 (40.7)	41 (43.6)		5 (20.8)	18 (30.5)		16 (31.4)	59 (38.6)	
2 o más veces	16 (59.3)	53 (56.4)		19 (79.2)	41 (69.5)		35 (68.6)	94 (61.4)	
Supervisión de cepillado dental de la madre/cuidador			<b>0.039<sup>c</sup></b>			0.667 <sup>b</sup>			<b>0.029<sup>b</sup></b>
No	0 (0.0)	13 (13.8)		1 (4.2)	6 (10.2)		1 (2.0)	19 (12.4)	
Si	27 (100.0)	81 (86.2)		23 (95.8)	53 (89.8)		50 (98.0)	134 (87.6)	
Atención Odontológica									
Visita al odontólogo			0.423 <sup>a</sup>			0.813 <sup>a</sup>			0.627 <sup>a</sup>
Si	15 (55.6)	44 (46.8)		11 (45.8)	29 (49.2)		26 (51.0)	72 (47.1)	
No	12 (44.4)	50 (53.2)		13 (54.2)	30 (50.9)		25 (49.0)	81 (52.9)	
Motivo de la primera visita al odontólogo			<b>0.048<sup>b</sup></b>			0.838 <sup>b</sup>			0.121 <sup>b</sup>
No asistieron	12 (44.4)	50 (53.2)		13 (54.2)	30(50.9)		25 (49.0)	80 (52.3)	
Dolor	0 (0.0)	1 (1.1)		1 (4.2)	5 (8.5)		1 (2.0)	6 (3.9)	
Consulta	15 (55.6)	31 (33.0)		8 (33.3)	16 (27.1)		23 (45.0)	47 (30.7)	
Tratamiento	0 (0.0)	12 (12.7)		2 (9.3)	8 (13.5)		2 (4.0)	20 (13.1)	
Dieta cariogénica									
Frecuencia de consumo de golosinas al día			0.052 <sup>a</sup>			0.414 <sup>a</sup>			<b>0.024<sup>a</sup></b>
A veces/ Nunca	10 (37.0)	24 (25.5)		13 (54.2)	23 (39.0)		23 (45.1)	47 (30.7)	
1 vez	13 (48.2)	33 (35.1)		8 (33.3)	23 (39.0)		21 (41.2)	56 (36.6)	
2 o más veces	4 (14.8)	37 (39.4)		3 (12.5)	13 (22.0)		7 (13.7)	50 (32.7)	

\* Media ± desviación estándar; a: Prueba chi cuadrado; b: Prueba de Fisher; c Prueba Mann Whitney.

Continuación

Variables	1° Periodo (n=121)		<i>p</i>	2 Periodo (n=83)		<i>p</i>	Total (n=204)		<i>p</i>
	CIT- Índice ICDAS II			CIT- Índice ICDAS II			CIT- Índice ICDAS II		
	27 (22.3%)	94 (77.7%)		24 (28.9%)	59 (71.1%)		51 (25.0%)	153 (75.0%)	
<b>Condiciones bucales</b>									
Nivel de higiene bucal según índice Silness-Löe modificado			<0.001 <sup>c</sup>			<0.001 <sup>c</sup>			<0.001 <sup>c</sup>
Bueno	7 (25.9)	6 (6.4)		18 (75.0)	2 (3.4)		25 (49.0)	8 (5.2)	
Regular	0 (0.0)	40 (42.6)		1 (4.2)	49 (83.1)		25 (49.0)	56 (36.6)	
Deficiente	20 (74.1)	48 (51.0)		5 (20.8)	8 (13.5)		1 (2.0)	89 (58.2)	
<b>Factores biológicos</b>									
pH saliva	8.63 ± 1.57	8.49 ± 1.62	0.865 <sup>d</sup>	7.51 ± 1.27	7.59 ± 1.95	0.299 <sup>d</sup>	8.10 ± 1.53	8.14 ± 1.80	0.872 <sup>d</sup>

\* Medina ± Rango intercuartil; a: Prueba chi cuadrado; b: Prueba Mann Whitney; c: Prueba de Fisher.



#### **1.5.1.6. Asociación de la caries de infancia temprana y estado nutricional.**

Con relación a los diferentes indicadores con sus respectivas categorizaciones tanto al año y dos años no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de niños con y sin CIT. Sin embargo, durante la evaluación a la edad actual, se evidenció que los niños sin CIT presentaban un mayor promedio del puntaje Z de IMC para la edad ( $1.30 \pm 1.24$ ), en comparación con los que presentaban CIT ( $0.78 \pm 1.08$ ), este resultado fue estadísticamente significativo ( $p=0.014$ ). (Tabla 6)

Tabla 7. Asociación entre Caries de Infancia Temprana y Estado Nutricional en análisis bivariado.

Estado Nutricional	Total (n=204)		<i>p</i>
	Caries de Infancia Temprana según ICDAS II		
	Ausencia 51(25.0%)	Presencia 153(75%)	
<b>Estado nutricional al año</b>			
<b>Talla para la edad</b>			0.616 <sup>a</sup>
Categorías	Desnutrición crónica	5(9.8)	19(12.4)
	Normal	46(90.2)	134(87.6)
<b>Peso para la talla</b>			0.448 <sup>b</sup>
Categorías	Normal	43(84.3)	137(89.6)
	Sobrepeso	7(13.7)	12(7.8)
	Obesidad	1(2.0)	4(2.6)
<b>Peso para la edad</b>			0.776 <sup>b</sup>
Categorías	Bajo peso	1(1.9)	1(0.7)
	Normal	49(96.1)	148(96.7)
	Sobrepeso	1(2.0)	4(2.6)
<b>Estado nutricional a los 2 años</b>			
<b>Talla para la edad</b>			0.587 <sup>a</sup>
Categorías	Desnutrición crónica	4(7.8)	16(10.5)
	Normal	47 (92.2)	137(89.5)
<b>Peso para la talla</b>			0.862 <sup>b</sup>
Categorías	Normal	47(92.2)	141(92.2)
	Sobrepeso	4(7.8)	10(6.5)
	Obesidad	0(0.0)	2(1.3)
<b>Peso para la edad</b>			0.760 <sup>b</sup>
Categorías	Bajo peso	0(0.0)	2(1.3)
	Normal	51(100)	148(96.7)
	Sobrepeso	0(0.0)	3(2.0)
<b>Estado nutricional a la evaluación bucal</b>			
<b>Talla para la edad</b>			0.846 <sup>c</sup>
Categorías		-0.73±0.88	-0.74±0.89
	Desnutrición crónica	5(9.8)	14(9.2)
	Normal	46(90.2)	139(90.8)
<b>Puntaje Z de IMC para la Edad</b>			<b>0.014<sup>c</sup></b>
		1.30 ± 1.24	0.78 ± 1.08

\* Media ± desviación estándar; a: Prueba chi cuadrado; b: Prueba de Fisher; c: Prueba de U-Mann Whitney

### 1.5.1.7. Análisis multivariado

Dado que el único indicador asociado en el análisis bivariado fue el puntaje z de IMC, se procedió a realizar el análisis multivariado. Previo a este análisis, se verificó si el hecho de haber recogido información antes y durante la pandemia pudo haber modificado el efecto del estado nutricional y caries, sin embargo, el análisis concluyó que no hay tal efecto modificador (Anexo 8) y por lo tanto los datos fueron tratados como un solo grupo. En el análisis multivariado, a la edad de la evaluación bucal se encontró que por cada unidad de aumento en el puntaje z de IMC para la edad, la prevalencia de CIT disminuye en un 7% (IC 95%: 1% ,12%), ajustado por la edad del cuidador, ingreso familiar mensual, puntuación del PPI, frecuencia de cepillado dental, supervisión de cepillado dental, motivo de consulta, consumo de golosinas y nivel de higiene bucal. (Tabla 8)

Adicionalmente, se evidenció que la prevalencia de CIT en niños que consumen golosinas más de dos veces al día fue 19% mayor que en aquellos que no consumían golosinas, con un IC al 95%; 1% a 40%. También se evidenció que la prevalencia de CIT en niños con higiene bucal regular fue 2.66 veces que la prevalencia de CIT en niños con buena higiene bucal, (IC 95%; 1.46, 4.76). Asimismo, la prevalencia de CIT en niños con un nivel de higiene bucal deficiente fue 3.72 veces que la prevalencia de CIT en niños con buena higiene bucal, con un IC al 95%; 2.09 ,6.55) (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis multivariado entre CIT y estado nutricional ajustado por edad del cuidador, ingreso familiar mensual, puntuación de Índice de probabilidad y pobreza, frecuencia de cepillado dental, supervisión de cepillado dental, motivo de la primera visita al odontólogo, consumo de golosinas y nivel de higiene bucal.

Variables	SIN AJUSTAR			AJUSTADO		
	CIT			CIT		
	RP	IC 95%	P	RP	IC 95%	p
<b>Estado Nutricional</b>						
Puntaje z de IMC para la edad - Evaluación bucal	0.89	0.82 - 0.97	<b>0.007</b>	0.93	0.88 - 0.99	<b>0.049</b>
<b>Condiciones bucales</b>						
Nivel de higiene bucal según índice modificado Silness-Löe						
Bueno	Ref.			Ref.		
Regular	2.85	1.53 - 5.31	<b>0.001</b>	<b>2.66</b>	1.43 - 4.94	<b>0.002</b>
Deficiente	4.08	2.23 - 7.47	<b>0.000</b>	<b>3.72</b>	2.03 - 6.81	<b>0.000</b>
<b>Dieta cariogénica</b>						
Frecuencia de consumo de golosinas al día						
A veces/ Nunca	Ref.			Ref.		
1 vez	1.08	0.87 - 1.34	0.464	1.06	0.89 - 1.26	0.508
2 o más veces	1.30	1.08 - 1.58	<b>0.006</b>	1.19	1.01 - 1.40	<b>0.039</b>
<b>Edad del cuidador (años)</b>	1.01	0.99 - 1.02	0.230	1.01	0.99 - 1.02	0.228
<b>Ingreso familiar mensual</b>	1.00	0.99 - 1.01	0.539	1.00	0.99 - 1.00	0.515
<b>Pobreza</b>						
Promedio de Pobreza según PPI (Puntuación Total)	0.99	0.98 - 1.01	0.088	0.99	0.99 - 1.03	0.584
<b>Hábitos de salud bucal</b>						
Supervisión de cepillado dental de la madre/cuidador						
Si	Ref.			Ref.		
No	1.3	1.14 - 1.49	<b>0.000</b>	1.06	0.90 - 1.24	0.474
<b>Atención Odontológica</b>						
Motivo de la primera visita al odontólogo						
No asistieron	Ref.			Ref.		
Dolor	1.12	0.82 - 1.55	0.473	0.87	0.70 - 1.09	0.232
Revisión	0.88	0.72 - 1.07	0.207	0.94	0.30 - 1.10	0.417
Tratamiento	1.19	1.00 - 1.41	<b>0.042</b>	1.13	0.96 - 1.33	0.150

RP: Razón de Prevalencia, IC: Intervalo de Confianza; Regresión Logística Múltiple; Ajustado por edad del cuidador, ingreso familiar mensual, puntuación de Índice de probabilidad y pobreza; hábitos de higiene: supervisión de cepillado dental; atención odontológica: motivo de consulta; dieta cariogénica: consumo de golosinas y nivel de higiene bucal.

## 1.6. Discusión

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la asociación entre CIT en niños de 3 a 5 años y el estado nutricional al año, dos años y a la edad de evaluación bucal. No se evidenció asociación entre el estado nutricional al año o dos años y la CIT evaluado a los 3-5 años (edad de la evaluación bucal), lo que indicaría que el estado nutricional previo no afecta la salud oral en estos niños. Sin embargo, se observó que los niños con mayor IMC tenían una menor prevalencia de CIT a la edad de la evaluación bucal. Similares resultados encontraron Guaré et al., quienes observaron que los niños/adolescentes con sobrepeso y obesidad, de acuerdo al IMC para la edad, tenían menor experiencia de caries dental y menor riesgo de caries en ambas categorías (64). Aunque el hallazgo parezca no intuitivo, esto podría explicarse por varios factores; uno de ellos, la presencia en la saliva de anticuerpos asociados a la caries dental. Pérez et al. demostraron que los niños con sobrepeso/obesidad, evaluados a través del IMC, tienen niveles más altos de inmunoglobulina A secretora (IgA-s) en la saliva (90). Así mismo, Pandey et al. observaron que la IgA-s se une a componentes moleculares e interfiere en la adhesión microbiana, esta Ig-A es preponderante en la saliva y desempeña un rol relevante en el proceso de prevención de la caries dental (91). Teniendo en cuenta lo anterior, es razonable deducir que los niños con sobrepeso u obesidad podrían presentar menor posibilidad de presentar caries dental porque su saliva contiene niveles más altos de IgA-s (90). Guaré et al, también menciona que tal vez, la relación inversa entre la obesidad y la experiencia de caries dental podría estar asociada a diferencias fisiológicas

(incluyendo el metabolismo, el sistema inmunológico, el cardiovascular y otros) entre niños/adolescentes sanos y obesos (44). Por otro lado, Fernández et al. sugieren que una ingesta de alta frecuencia de carbohidratos podría contribuir a la instalación de la enfermedad de caries pero sin impacto en el peso de los niños, pues una posible explicación para esta asociación negativa entre obesidad y caries es el estar relacionada con las comidas principales y los snacks, dado que los snacks aportan bajo valor nutricional mientras que las comidas principales aportan más proteínas y grasas y menos contenido de azúcares que los snacks (92).

Una revisión sistemática y metaanálisis realizada por Angelopoulou et al., evaluaron entre los indicadores antropométricos peso para la talla e IMC para la edad, en este estudio mencionan que los resultados de los estudios incluidos fueron incongruentes; sin embargo, el metaanálisis podría sugerir que los niños con sobrepeso u obesidad presentan más posibilidad de sufrir caries. No obstante, este hallazgo debe tomarse con cautela, pues todos los estudios incluidos fueron transversales, con pruebas de calidad moderada y con un riesgo de sesgo relativamente alto (93).

Chen et al., basados en el indicador IMC, encontraron una prevalencia significativamente alta de riesgo de caries entre los niños con sobrepeso y obesidad en los dientes primarios y permanentes en países con recursos económicos altos, pero no en países con recursos económicos bajos y medios (19). Al respecto, Marshall et al. reportaron que la caries dental y la obesidad

coexisten en niños de nivel socioeconómico alto. Como señala Marshall et al., el hecho de haber sido identificado como "sobrepeso" en un periodo temprana de la vida puede atraer la atención de los profesionales de la salud y los padres, quienes podrían haber implementado medidas dietéticas restrictivas. Estas medidas podrían haber reducido el riesgo de caries en los niños con "sobrepeso" sin afectar la predisposición genética a la obesidad(94). Por otro lado, los niños identificados como "en riesgo" de sobrepeso a la edad de 5 años podrían estar experimentando los efectos ambientales acumulativos de factores dietéticos; es decir, con el tiempo, estas influencias acumulativas podrían contribuir a la condición de "en riesgo" de sobrepeso a medida que crecen y serían los mismos factores dietéticos observados en niños con caries dental (95). En el presente estudio, la obesidad de los niños fue relativamente reciente, pues se observó que al menos en los dos primeros años, las frecuencias de sobrepeso y obesidad fueron menores en comparación de los estados nutricionales a la edad de la evaluación bucal.

Adicionalmente, Manohar et al., mencionan que los niños con sobrepeso y obesidad, según el indicador IMC para la edad, son mayormente vulnerables a la caries dental y que los niveles de ingresos inferiores y la educación de los padres influyen en la relación entre los dos problemas. Sin embargo, la calidad de la evidencia varió considerablemente; por lo tanto, los hallazgos deben interpretarse con cautela (95). Existe otro estudio que sugiere que la caries dental está asociada con un estado de índice de masa corporal (IMC) alterado, ya sea de bajo peso o de sobrepeso, y la asociación no parece diferir entre

países o regiones(80,96). La naturaleza de la asociación es, sin embargo, compleja y podría estar influenciada por una serie de factores biomédicos y psicosociales para el grupo de edad preescolar (78,80).

Los hallazgos en el presente estudio revelan que el estado nutricional al año y a los dos años no presentó una asociación con la CIT, pero se observó que mayormente los niños con desnutrición crónica presentaron CIT en los dos primeros años de vida. Con relación a lo mencionado, los niños desnutridos podrían tener menor acceso de alimentos azucarados o ácidos, disminuyendo así la ingesta del azúcar, potencial factor de riesgo para el progreso de lesiones de caries. Por otro lado, los niños con bajo peso podrían convivir en un entorno de malas condiciones económicas y falta de conocimiento sobre cuidados salud bucal que conllevarían a una mayor experiencia de caries dental(26). Así, se ha recomendado que los programas de prevención en salud pública deben abordar de forma conjunta las afecciones en el estado nutricional de los niños para disminuir la carga y potenciar la eficacia de las estrategia(96). Además, se debe destacar que los equipos de atención primaria, que incluyen agentes de salud comunitarios, presentan un rol primordial en el éxito de los programas dirigidos a prevenir la CIT(2).

Asimismo, otro hallazgo importante es la confirmación de la asociación significativa entre la higiene bucal deficiente y la CIT. Al respecto, otras investigaciones reportaron que la deficiencia o falta de higiene bucal influenciada por la pobreza y la desigualdad en el acceso a los servicios de



salud podrían desempeñar un rol importante en el desarrollo de la caries dental(78,80). A estos se suman otras condiciones de riesgo de caries como el cepillado no frecuente, padres con desempleo o trabajo independiente y con nivel de educación menor de 8 años, y el consumo de azúcares de al menos una vez al día(97).

Cabe mencionar que, en el presente estudio se evidenció que algunos niños con IMC para la edad aumentado presentaban buena higiene bucal. Referente a este resultado, Jürgersen et al. relataron que la ausencia de placa gruesa visible en la superficie dental y las diferencias en la frecuencia de cepillado dental o las habilidades/eficacia del cepillado dental pueden reflejarse en un buen control del placa dental (98). Además, García et al. hacen referencia que es posible que, los niños de nivel socioeconómico alto tendrían mayor acceso a los servicios de salud dental que los que viven en países no industrializados. Esto favorecería la prevención de la caries dental, suponiendo una mejor higiene bucal, sin embargo, las conclusiones aun no son definitivas por ser una relación compleja(99). Además, cabe mencionar que este buen estado de salud bucal en los niños estudiados podría ser debido a que estos niños han pertenecido a una cohorte de nacimiento, donde se brindó consejería de salud general desde el nacimiento, que podría haber contribuido en los cuidados de salud bucal de manera más consciente.

Otro punto por considerar es que una parte de los niños que participaron en este estudio fue evaluada en el transcurso de la pandemia, lo que produjo

cambios en los comportamientos de estilo de vida, incluido el consumo de comida rápida y el tiempo sedentario durante la pandemia. Al respecto, diversos estudios recientes han asociado estos cambios durante la pandemia por COVID-19 con el aumento de peso (100–102).

Considerando que en la presente investigación se evidenció asociación entre CIT y el alto consumo de azúcares a través del consumo de golosinas; podríamos mencionar que el consumo de azúcares justo después de la erupción de los de los primeros dientes facilita el establecimiento de un microbiota oral cariogénica, que es una condición predictiva de futura experiencia de CIT (103). Algunos estudios de cohorte en preescolares han reportado esta asociación (104,105) y otros estudios realizados en diversas poblaciones han mostrado que la dieta rica en azúcares tiene un rol primordial en la aparición y la gravedad de la caries dental (103). Los datos muestran una relación dosis-respuesta entre el consumo de azúcar y caries dental; así, cuanto mayor es la ingesta de azúcar, mayor es la experiencia y la severidad de la CIT(104,105). Sin embargo, otros estudios relataron que aún no está clara esta asociación, pues el consumo de azúcar una o dos veces al día no se asocia a un importante incremento del riesgo de caries dental (103,106).

Otro factor que estuvo inmerso en el presente estudio fue la pandemia, Matsuyama et al. en un estudio de cohorte, encontraron que la caries dental en niños aumentó ligeramente luego de la pandemia. Sin embargo, es necesario estudios para evaluar el impacto de la pandemia en la caries dental infantil

(107). Además, cabe comentar que durante el confinamiento destinado a contener la propagación de la pandemia los niños modificaron sus estilos de vida y como consecuencia existió un aumento de peso originando sobrepeso/obesidad(108). Según Neshteruk et al. en este periodo se presentaron cambios dietéticos clave, también se presentaron cambios en los horarios de sueño con los niños que se acostaban y se despertaban más tarde, y un aumento del tiempo de ocio observando los dispositivos con pantalla. (109). Sin embargo, en el presente estudio no se encontró evidencia de tal efecto modificador, y además nuestra población no fue evaluada antes de la pandemia.

## **1.7 Limitaciones**

Una de las limitaciones de este estudio radica en que a pesar de que se tenía información de los indicadores antropométricos del año y dos años, no teníamos información sobre la evaluación bucal en esas edades. Sin embargo, cabe destacar que el estudio consideró datos antropométricos fidedignos provenientes de una cohorte de nacimiento en los dos primeros años de vida, que contribuyó en la evaluación de la asociación con la CIT.

Otra limitación fue que las madres/cuidadoras tenían que contestar algunas preguntas sobre eventos pasados, tales como la visita al odontólogo, inicio de cepillado dental y el motivo de la visita al odontólogo. Sin embargo, tenían conocimiento de la salud general de sus hijos, probablemente por haber participado durante dos años en el estudio de cohortes previo, y por ello podrían estar concientizadas sobre el estado de salud de sus hijos.

## **1.8. Recomendaciones**

Este estudio podría ser el punto de inicio de futuras investigaciones con diseños longitudinales que nos permitan mejorar la evidencia causal de estas dos condiciones. Se sugiere realizar cuestionarios de hábitos de dieta cariogénica teniendo en cuenta las frecuencias del consumo de productos azucarados que nos permita comprender esta asociación.

## **1.9 Conclusiones**

El presente estudio encontró asociación inversa entre la caries de infancia temprana y IMC en niños de 3-5 años. Ambos son morbilidades, por lo que habría que esclarecer o abordar con mayor profundidad esta asociación teniendo en cuenta los estilos de vida. Al respecto, el nivel de higiene bucal irregular o deficiente y consumo de golosinas son factores asociados con esta enfermedad, tal como lo afirma la evidencia disponible.

## CAPÍTULO II

### **Asociación entre la concentración de *Streptococcus dentisani* y la caries de infancia temprana en niños de 3 a 5 años.**

#### **Resumen**

**Objetivo:** Evaluar la asociación entre la concentración de *Streptococcus dentisani* y la caries de infancia temprana (CIT) en niños de 3 a 5 años.

**Materiales y métodos.** Estudio transversal que incluyó a 204 niños de 3 a 5 años, con muestras de placa dental, evaluados mediante el índice ICDAS II para determinar la presencia de CIT. Se analizaron las concentraciones de *S. dentisani* y adicionalmente de *S. mutans* utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (qPCR). Además, se recabó información sobre dieta cariogénica, hábitos de higiene bucal y pH. El análisis estadístico multivariado de la concentración de *S. dentisani* en UFC/ng de ADN, expresados en logaritmos base 10, y CIT fue realizado ajustado por las variables confusoras.

**Resultados.** La concentración de *S. dentisani* en placa dental en niños sin CIT fue  $6.62 \times 10^3$  UFC/ng de ADN, en contraste con  $4.40 \times 10^3$  UFC/ng de ADN en niños con CIT ( $p < 0.05$ ). En el análisis multivariado ajustado por las variables confusoras, se encontró que el promedio de concentración de *S. dentisani* en los niños con CIT fue  $0.52 \log_{10}$  UFC/ng de ADN menor que el grupo sin CIT (IC 95%: -1.00 a -0.03). Asimismo, se encontró que el promedio de concentración de *S. dentisani* en el grupo de niños que consumían golosinas 1 o 2 veces al día fue  $0.65 \log_{10}$  UFC/ng de ADN menor que en el grupo que no consumían estos productos (IC 95%: -1.13, -0.16). Finalmente, no hubo correlación entre las concentraciones de *S. dentisani* y *S. mutans* ( $p > 0.05$ ), en muestras de placa dental.

**Conclusión.** Existe asociación inversa de *S. dentisani* con caries de infancia temprana en nuestra población de estudio.

**Palabras claves:** Preescolares, *Streptococcus*, Caries Dental, Placa Dental.

## **Abstract**

**Objective.** To determine the association between the concentration of *Streptococcus dentisani* in dental plaque samples and early childhood caries (ECC) children aged 3 to 5 years.

**Material and Method.** Cross-sectional study that included 204 children aged 3 to 5 years, with dental plaque samples, evaluated using the ICDAS II index to determine the presence of ECC. The concentrations of *S. dentisani* and additionally of *S. mutans* were analyzed using the real-time polymerase chain reaction technique (qPCR). In addition, information was collected on cariogenic diet, oral hygiene habits and pH. The multivariate statistical analysis that evaluated the association between concentrations of *S. dentisani* in CFU/ng of DNA, expressed in base 10 logarithms, and ECC, was performed adjusted for confounding variables.

**Results.** The concentration of *S. dentisani* in dental plaque in children without ECC was  $6.62 \times 10^3$  CFU/ng of DNA, in contrast to  $4.40 \times 10^3$  CFU/ng of DNA in children with ECC ( $p < 0.05$ ). In the multivariate analysis adjusted for confounding variables; it was found that the average concentration of *S. dentisani* in children with ECC was 0.52 log<sub>10</sub> CFU/ng of DNA lower than the group without ECC (95% CI: -1.00, -0.03). Likewise, it was found that the average concentration of *S. dentisani* in the group of children who consumed of sweets 1 or 2 times a day was 0.65 log<sub>10</sub> CFU/ng of DNA lower than in the group that did not consume these products (95% CI: -1.13, -0.16). Finally, there was no correlation between the concentrations of *S. dentisani* and *S. mutans* ( $p > 0.05$ ), in dental plaque samples.

**Conclusion.** There is an inverse association between *S. dentisani* and early childhood caries in this study population.

**Keywords:** Preschools, *Streptococcus*, Dental Caries, Dental Plaque.



## 2.1 Introducción.

La caries dental es un problema bucal que surge por la interacción de factores medioambientales que provocan la alteración de una comunidad bacteriana en equilibrio hacia un desequilibrio (disbiosis). Tiene como factor principal asociado el alto consumo de azúcares, los cuales son utilizados por bacterias afines que generan ácidos, disminuyendo así el pH y modificando el entorno. Esta nueva condición ambiental favorece la proliferación de más bacterias productoras de ácidos (110). La caries dental se ha asociado con una composición microbiana diferente a lo largo del tiempo (29).

Durante años, los microorganismos asociados con la caries dental han sido los *Streptococcus mutans* y otras especies como *Lactobacillus spp.*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium* y *Veillonella* (29). Una especie bacteriana resistente al ácido es el *Streptococcus mutans*, el cual es altamente cariogénico, y su presencia temprana en niños sin dientes (a partir de los 3 meses de edad) sugiere que los tejidos blandos pueden desempeñar un papel como reservorio de microorganismos patógenos orales (40).

Por otro lado, algunos estudios demuestran que la presencia de especies de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.* son marcadores de riesgo para la caries de infancia temprana (111,112). También, se ha encontrado al género *Bifidobacterium* en mayor cantidad que los *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.* en caries de infancia temprana a nivel de dentina profunda y cavitada (113,114).

Los avances recientes en los métodos moleculares han permitido estudiar la microbiología de la caries dental, demostrando que la diversidad de la microbiota implicada en la enfermedad, es mucho más variada de lo que se creía (69). Estudios recientes han evaluado la posible modificación del microbioma oral (es decir se refiere a la microbiota y a la función que cumple dentro de dicho hábitat) por el empleo de antibióticos en los dos primeros años de edad, así como el tipo y la duración de la lactancia y el tipo de parto (29). Sin embargo, se necesitan más estudios exploratorios que describan la diversidad y riqueza de los microorganismos orales desde los primeros años de vida (29).

A pesar de su asociación con microorganismos, la caries dental no es considerada una enfermedad infecciosa en términos clásicos porque su etiología es claramente polimicrobiana y porque las bacterias patógenas involucradas también se encuentran en individuos sanos, aunque en proporciones más bajas (31). Cada vez está más claro que no solo hay bacterias asociadas a la enfermedad y comensales en la cavidad oral, sino también otros microorganismos que contribuyen al equilibrio del microbiota, ya que poseen propiedades benéficas que parecen estar asociados activamente con la salud como son las bacterias por ejemplo *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (provenientes de la microbiota intestinal) (31). Sin embargo, el uso de muchas de estas cepas en enfermedades orales como la caries dental puede ser problemático porque tanto las especies *Lactobacillus* como *Bifidobacterium* han demostrado ser acidógenas y participar en la degradación de las estructuras de los dientes. La capacidad de las bacterias intestinales para

colonizar el nicho oral y producir efectos anticaries todavía debe demostrarse, incluso si se seleccionan cepas acidógenas débiles. Además, el uso de probióticos intestinales en la cavidad oral ha sido criticado. (31,115). Recientemente, se han identificado algunas especies orales nuevas, de la propia cavidad bucal, que presentan funciones antimicrobianas y reguladoras del pH, lo que las hace prometedoras para nuevas estrategias de prevención de la caries dental (35).

Una de estas bacterias beneficiosas es el *S. dentisani*, que pertenece al grupo *Mitis* y se ha aislado de la placa dental de individuos adultos españoles sin caries (35). Este microorganismo tiene un aspecto de coco, su crecimiento es en colonias de aproximadamente 1.5 mm de diámetro, siendo un anaerobio facultativo y presenta un pH ideal de 7, pero resiste condiciones ácidas moderadas (40). Uno de sus atributos beneficiosos es la producción de bacteriocinas, las cuales inhiben el crecimiento de bacterias involucradas en la caries dental como el *S. mutans*. Otro atributo es la capacidad de amortiguación del pH a partir de la producción de amonio mediante arginina (40).

El *S. dentisani* se ha propuesto como probiótico para prevenir caries, ya que los probióticos asociados al intestino tienen atributos limitados para colonizar la cavidad oral y desempeñar su función relevantemente beneficiosa. Los estudios sobre estas bacterias, que presenten características beneficiosas para la cavidad oral y comprueben su eficacia, son escasos; sin embargo, se están realizando ensayos clínicos en seres humanos con la cepa *S. dentisani* 7746(38,116).

Además, estudios sobre la mejora de ciertos parámetros clínicos en comparación con el grupo placebo, como la producción de lactato, el flujo salival o el índice de placa (32), deberían llevarse a cabo en el futuro a partir de estudios que determinen su presencia y cuantifiquen esta bacteria beneficiosa en diferentes poblaciones y grupos etarios. Puesto que en niños menores de 5 años existen una escasa evidencia científica que han determinado la presencia del *S. dentisani* (27,29).

Actualmente, tres estudios realizados en niños muestran resultados mixtos. Angarita et al. no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en la presencia de *S. dentisani* en niños colombianos de 6 a 12 años con o sin caries dental. Sin embargo, observaron una mayor presencia del *S. dentisani* en niños con menos frecuencia de consumo entre comidas y en niños con mayor uso de productos con flúor (40). López-Santacruz et al. identificaron *S. dentisani* en la placa dental supragingival de 25 niños de 4 a 12 años sin caries y 29 con caries activa de una población infantil mexicana, encontrando proporciones significativamente mayores en el grupo sin caries. Además, encontraron una correlación negativa entre la caries dental (evaluado mediante del índice de ceo-d: cariados, perdidos u obturados en dientes) y el porcentaje de *S. dentisani* (27). Bedoya-Correa et al. llevaron a cabo un estudio en 54 niños en Colombia entre las edades de 6 a 11 años, donde hallaron un aumento en la frecuencia de *S. dentisani* en el grupo sin caries, sugiriendo la alternativa de requerir niveles mínimos de *S. dentisani* en la placa dental para demostrar una condición protectora verdadera. También es importante tener en cuenta que este efecto podría estar relacionado con factores intrínsecos de los niños

y con la variabilidad genética intraespecífica que se encuentra en cada individuo (39).

Debido a las propiedades y a los hallazgos en los diferentes estudios sobre *S. dentisani*, esta bacteria podría desempeñar un papel como un marcador biológico para condiciones de salud oral. (32,37,40,117). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es determinar la asociación entre la concentración de *S. dentisani* y la caries de infancia temprana, mediante la evaluación de CIT a través del índice ICDAS II y de muestras de placa dental y saliva. Todas las muestras fueron analizadas mediante la técnica de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (qPCR) para evaluar las concentraciones de *S. dentisani*, así como del *S. mutans*, este último considerado altamente patógeno en la caries dental.

## **2.2 Pregunta de Investigación:**

¿Cuál es la asociación entre las concentraciones de *S. dentisani* en placa dental y la CIT en niños que residen en Villa El Salvador?

## **2.3. Objetivo de la Investigación:**

Determinar la asociación entre las concentraciones de *S. dentisani* en placa dental y la CIT en niños que residen en Villa El Salvador.

### **2.3.1 Objetivos Secundarios:**

- Determinar la relación entre las concentraciones de *S. mutans* y *S. dentisani* en placa dental y saliva.

## 2.4. Materiales y Métodos

### 2.4.1 Diseño

La presente investigación es un estudio observacional, descriptivo, de muestras transversales recolectados del estudio 1.

### 2.4.2 Población y Diseño muestral

#### 2.4.2.1 Población

1) Población del estudio de la investigación 2:

Niños que provienen del estudio 1.

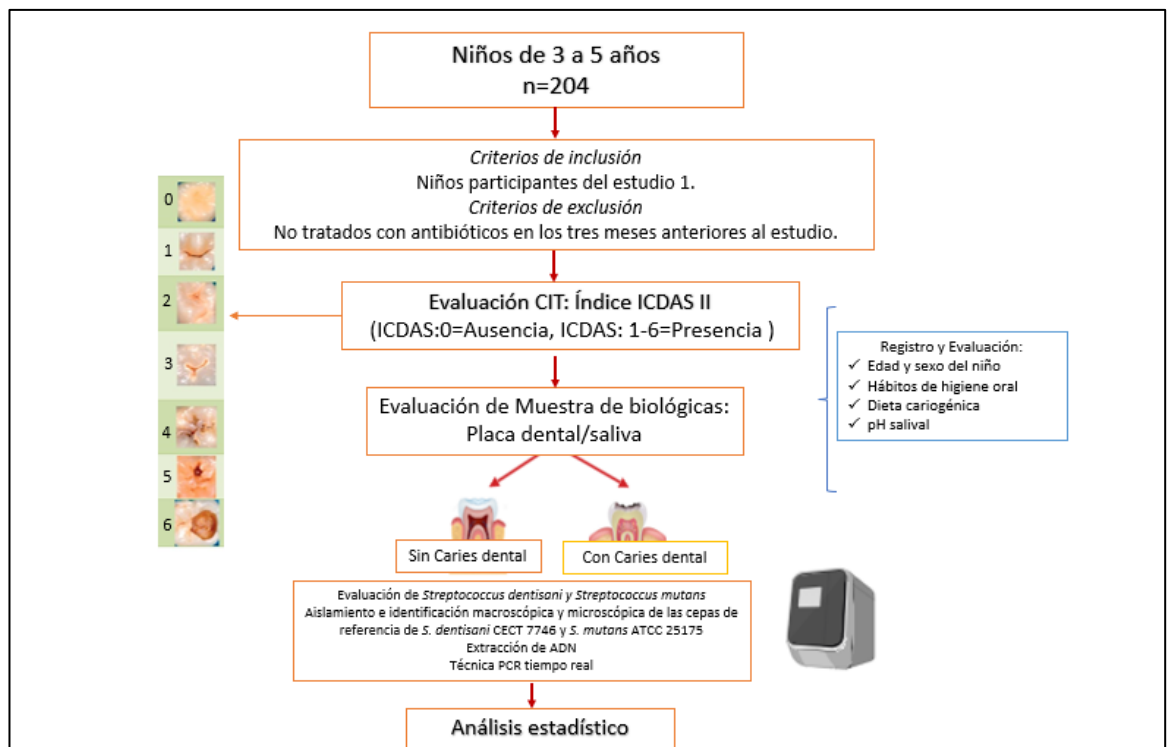


Figura 3. Diagrama de flujo del estudio del estudio 2.

#### 2.4.2.2. Criterios de selección

##### a. Criterios de inclusión

- Niños entre los 3 a 5 años participantes del estudio 1.

- Madre o tutor legal que por medio de consentimiento informado aceptó la toma de muestras biológicas (saliva y placa dental).

**b. Criterios de exclusión**

- Niño con xerostomía por algún problema de salud.
- Niño (a) que no colabora a pesar de tener el consentimiento informado por la madre o tutor legal.
- Tratados con antibióticos en los tres meses previos al estudio (29).
- Niño que presentará alguna incapacidad mental o física.

**2.4.3. Muestreo**

**i. Tipo de muestreo**

El presente estudio fue por muestreo no probabilístico por conveniencia, participaron todos los niños del estudio 1 que cumplieron con los criterios de inclusión.

**2.4.4. Procedimiento del estudio.**

La recolección y conservación de muestras biológicas para la investigación 2, se detalla en la investigación 1, en el ítem 1.4.4.3. Recolección de datos; sub ítem d. Muestras biológicas.

En el presente estudio se realizó una identificación y cuantificación de la concentración de *S. dentisani* y de *S. mutans* de muestras de placa dental y saliva a la edad de la evaluación bucal. Se tomaron en cuenta variables descritas en el estudio 1 cómo: higiene bucal, pH salival, frecuencia de consumo de golosinas al día y frecuencia de alimentos entre las comidas al día(40).

### **a. Preparación para el procedimiento del estudio.**

En la prueba piloto se realizó lo siguiente:

- 1- La capacitación y el entrenamiento de toma de muestras está descrito en el estudio 1.
- 2- Se capacitó y entrenó a la investigadora principal en las diferentes técnicas de biología molecular que fueron utilizadas en el presente estudio: cultivo microbiológico, extracción de ADN y qPCR.

### **b. Enrolamiento.**

La invitación y el enrolamiento general se especifica en la investigación 1 en el ítem 1.4.4.2.

### **c. Recolección de datos**

#### ***Cuestionarios***

Cuestionario descrito en el estudio 1 (Ver Anexo 3) en donde se tomó en cuenta las siguientes variables:

- Hábitos de higiene bucal: Frecuencia de cepillado dental, uso de pasta dental con flúor(40).
- Dieta cariogénica: Frecuencia de alimentos entre las comidas al día, frecuencia de consumo de golosinas al día(40).

#### ***Muestras biológicas***

En el estudio presente se analizaron las muestras recolectadas, descritas en el estudio 1:



(1) Muestras de saliva.

A la madre y/o cuidadora se le dio instrucciones de no cepillarle los dientes la noche anterior a la toma de la muestra, así como también de que el niño no coma o tome bebidas dos horas antes de la toma de muestra (29).

La toma de muestra estuvo a cargo de la técnica de enfermería, puesto que ya tenía amplia experiencia en recolectar muestras de salivas durante el estudio. Para ello, se utilizó una esponja (Salimetrics® SalivaBio's Infant's Swab) usando el mismo protocolo de la cohorte estudiada, para recolectar saliva no estimulada durante 1–2 min. Esta muestra de saliva no estimulada se reconoce como una representación de todo el ecosistema oral. Se colocó en tubos de microcentrífuga de 2 ml. y se transportó en cajas refrigeradas (4°C) (29,72).

(2) Muestra de placa dental:

La investigadora principal se encargó de la toma de muestras de placa dental, pues es especialista en odontología pediátrica. Por ello, empleó métodos de manejo de conducta como de Decir-Mostrar-Hacer, modelamiento y refuerzo positivo (68) para demostrar al niño cómo se realizaría la toma de muestra. Las muestras de placa dental fueron de placa supragingival agrupadas se recolectaron de superficies lisas (vestibular, lingual y palatino) de los posible 20 dientes, sin tocar lesiones de caries; fue realizado con una cureta estéril y se colocó en tubos de microcentrífuga de 2 ml. con 200 µl de PBS 1x estéril (29,72).

#### **d. Procesamiento de muestras biológicas**

1. Reactivación de cepas de referencias tanto del *S. dentisani* y del *S. mutans*.

En primer lugar, se reactivaron las cepas de referencias *S. dentisani* (CETC 7446) y el *S. mutans* (ATTC25175) siguiendo las instrucciones de los fabricantes a través de medios de cultivo caldo y agar Infusión Cerebro Corazón (BHI, del inglés *Brain Heart Infusion*). Se realizó un control de calidad de las placas y tubos previo el sembrado de cepas. El proceso de sembrado fue realizado por agotamiento y posteriormente fueron incubados: el *S. dentisani* durante 24 h a 37°C y el *S. mutans* durante 48 h a 37°C en agitación (118).(Anexo 9)

2. Identificación de las cepas de referencia: *S. dentisani* y *S. mutans*.

El aislamiento e identificación de colonias de *S. dentisani* y *S. mutans* fue realizado a nivel macroscópico y microscópico. Se reconoció la forma de las colonias de ambas bacterias. Para ello, se aplicó técnicas de tinción de Gram(119) en todas las colonias y luego fueron observadas a microscopio óptico, identificando sus características típicas. López-López et al. mencionan que(35) las colonias de *S. dentisani*, son aproximadamente de 0.4 mm a 0.6 mm de diámetro, transparentes, semejantes a puntos finos, borde regular, convexas, consistencia suave, se desintegran y se deforman cuando son tocadas y se aprecia internamente pequeños puntitos que asemejan brillar (35). Mientras, las colonias de *S. mutans* presentan apariencia rugosa o lisa, de consistencia dura, los bordes no son regulares, el color varía de azul claro a oscuro (35,39) (Anexo 9).

### 3. Elaboración de curva estándar.

Es un método que nos permite determinar la cantidad de un gen en una muestra.

Para conseguir los resultados, se utiliza una curva estándar construida a partir de una dilución de ADN seriada de una concentración conocida. Previamente se realizó cálculo la equivalencia de unidades formadoras de colonias (UFC) con la concentración de ADN, para lo cual se realizó los siguientes procedimientos:

a. Cálculo de las unidades formadoras de colonias (UFC) para cada cepa de referencia.

Para esto se realizaron los siguientes procedimientos para cada una de las cepas de referencia: preparación de medios de cultivo (caldo BHI) y sembrado en agar BHI; luego se midió la densidad óptica (DO) a una longitud de onda de 595nm, por medio de un espectrofotómetro. Las absorbancias óptimas estuvieron en el rango de 0.08 a 0.1, cuyo objetivo fue establecer la fase del cultivo bacteriano ideal (118), obteniendo valores: *S. dentisani*= 0.0869 y *S. mutans*=0.0889. Luego se preparó las diluciones seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-10}$  y se inoculó 1 ml por triplicado en placas Petri con agar BHI y se extendió usando la espátula Drigalski estéril, y transcurrido el tiempo de incubación (24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ ), se continuó a la lectura de UFC. Obteniendo las siguientes concentraciones de UFC/ml de las cepas de referencia: *S. dentisani*:  $1.6 \times 10^8$  UFC/ml y *S. mutans*:  $4.95 \times 10^7$  UFC/ml. (Anexo 9).

b. Elaboración, propiamente, de la curva estándar de ADN de ambas bacterias.

Se realizó la extracción de ADN de las concentraciones obtenidas previamente de ambas bacterias. Posteriormente, se prepararon diluciones seriadas del ADN ( $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-10}$ ). A continuación, se procedió a la amplificación del

ADN mediante la técnica de qPCR utilizando SybrGreen, registrando los ciclos necesarios para alcanzar el umbral de fluorescencia (Ct). Los valores de Ct para cada dilución se obtuvieron y se representaron en las figuras 4 y 5. Cada curva se construyó siguiendo las recomendaciones de López-López et al.(31). Este procedimiento permite cuantificar con precisión la cantidad de ADN en las muestras utilizando qPCR (120).

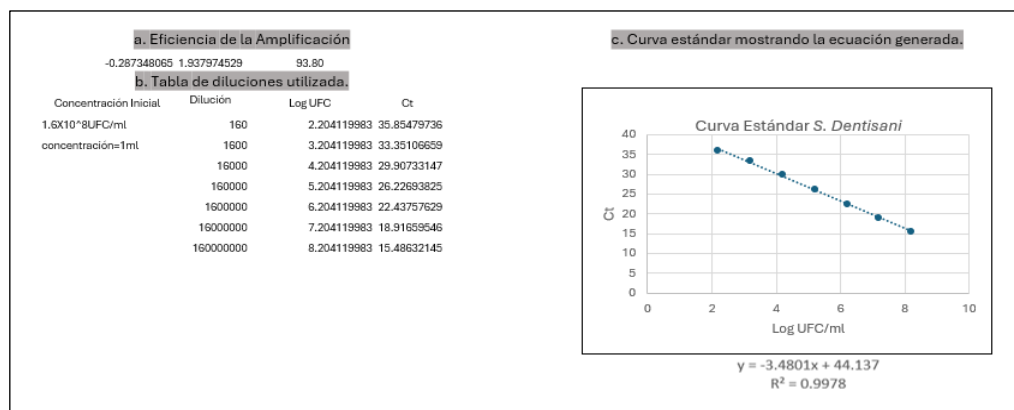


Figura 4. Curva Estándar del *S. dentisani*, a: Eficiencia de la Amplificación. b. Tabla de diluciones utilizada. c. Curva estándar mostrando la ecuación generada.

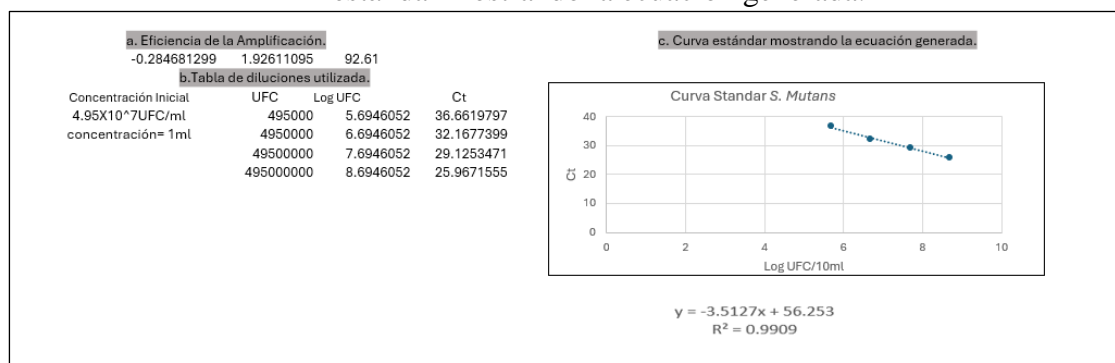


Figura 5. Curva Estándar del *S. mutans*, a: Eficiencia de la Amplificación. b. Tabla de diluciones utilizada. c. Curva estándar mostrando la ecuación generada.

#### 4. Determinación de la Concentración de *S. dentisani* y *S. mutans* en placa dental y saliva por qPCR:

Una vez realizado los anteriores procedimientos, se realizó la extracción de ADN de las muestras de placa dental y saliva de los 204 niños examinados. Posteriormente, se realizó la cuantificación utilizando la técnica de qPCR.

**a. Extracción de ADN en muestras de placa dental y saliva.**

El procedimiento de extracción de ADN fue similar para ambos tipos de muestra. Se alicuotó 250 µl. de placa dental conservada en PBS 1X o de saliva (almacenadas a -80°C hasta el momento del análisis) y centrifugó por refrigeración a -4°C a 13,000 rpm por 7 minutos y luego fue retirado todo el sobrenadante y se añadió 150 µL de Buffer TE. Luego se inició con el protocolo del Kit comercial MasterPure™ Gram Positive DNA Purification (Epicentre).

Cada muestra de ADN obtenido fue medida en el Nanodrop System para evaluar su calidad y cantidad en ng/ul de ADN.

**b. Cuantificación de *S. dentisani* y *S. mutans* mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (qPCR).**

El equipo utilizado fue el termociclador StepOnePlus™ Real-Time PCR Systems y con los reactivos para SYBR Green (QuantiTect SYBR Green PCR Kit). Se realizó una mezcla maestra para la reacción de qPCR de un volumen final de 20 µl., el cual contenía: 10 µl. de SYBR Green Master Mix 2x, 1.5 µl. por cada primer, 5 µl. de agua sin nucleasas, y 2 µl. de muestra. Los primers se muestran en la tabla 9. El ADN de la cepa de referencia de *S. dentisani* 7446 se usó como control positivo y agua para PCR libre de DNA como control negativo, igual se realizó con el *S. mutans* ATCC 251751.

Tabla 9. Primers usados en la prueba qPCR

Primers	Secuencia de nucleótidos 5'-3'	Blanco	Cepa de referencia
CkSdF	GTAACCAACCGCCCAGAAGG	arcC	Streptococcus Dentisani CECT 7746
CkSdR	CCGCTTTGGACTCGATCA		
GTFB-F	ACTACACTTTCGGGTGGCTTGG	gtfB	Streptococcus mutans ATCC 25175
GTFB-R	CAGTATAAGCGCCAGTTTCATC		

En las tablas 10 y 11 se aprecia la programación tanto para el *S. dentisani* y el *S. mutans*.

Tabla 10. Programación de q PCR – *Streptococcus dentisani*.

<b>Preincubación</b>	95°C 15 min.
<b>Amplificación</b>	95°C 10 seg.
	65°C 40 seg.
	72°C 25 seg.
<b>Curva Melting</b>	95°C 5 seg.
	65°C 1 min.

Tabla 11. Programación de q PCR – *Streptococcus mutans*.

<b>Preincubación</b>	95°C 15 min.
<b>Amplificación</b>	95°C 10 seg.
	60°C 40 seg.
	72°C 25 seg.
<b>Curva Melting</b>	95°C 5 seg.
	60°C 1 min.

Los valores de Ct obtenidos a partir de muestras de ADN de placa dental y de saliva se introdujeron en la ecuación de la curva estándar. Los valores resultantes se normalizaron para determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *S. dentisani* o *S. mutans* por nanogramo (ng) de ADN presente en las muestras y realizar el respectivo análisis estadístico.

#### 4. Supervisión y monitoreo de actividades

Las técnicas de microbiología molecular fueron también realizadas por la investigadora, previamente capacitada y entrenada en el laboratorio de Microbiología Molecular (LID)- UPCH, teniendo una reunión semanal para evaluar los avances con la asesora.

#### 2.4.5. Variables de estudio

##### 1. Variable desenlace (dependiente) y covariables principal (independiente)

###### Variable dependiente:

**Concentración de *S. dentisani*(29,40):** se evaluó la concentración de ADN de *S. dentisani* (UFC/ng ADN) en placa dental y saliva (UFC/ml) a través de la técnica de reacción en cadena de polimerasa tiempo real (qPCR).

Tipo de variable: numérica, continua, de razón.

###### Variable independiente(121):

**Caries de Infancia temprana:** se evaluó por medio del índice ICDAS II, el cual permite evaluar lesiones cariosas en sus fases iniciales, así como también su extensión y actividad. Presenta valores de 0 al 6.

Tipo de variable categórica, dicotómica, nominal.

Categorías: Ausencia = ICDAS II 0, Presencia=ICDAS II 1-6.

##### 2. Otras covariables relevantes

- **Concentración de *S. mutans* (UFC/ng ADN):** bacteria cariogénica en placa dental y saliva(35).

Tipo de variable: numérica, continua, razón.

- **Número de lesiones cariosas (27):** cantidad de lesiones cariosas por niño. Obtenido de la ficha odontológica

- Tipo de variable: cuantitativa, discreta, de razón.

- **Edad del niños**(61,74,77): estimado a partir de la fecha de nacimiento indicada en el DNI del menor, expresado en años. Obtenido de la base de datos del estudio madre.

Tipo de variable: cuantitativa, continua, de razón.

- **Sexo del menor** (21,61,78):obtenido a partir de la información consignada en el DNI del menor. Obtenido de la base de datos del estudio madre.

Tipo de variable: categórica, dicotómica, nominal

- **Frecuencia de cepillo dental** (40): obtenida la información del cuestionario del estudio 1.

Tipo de variable: categórica, politómica, ordinal.

Categorías: 1 vez al día/ no se cepilla, 2 veces al día, 3 veces al día.

- **Uso de pasta dental con flúor** (40) : obtenida la información del cuestionario del estudio 1.

Tipo de variable: categórica, dicotómica, nominal.

Categorías: no, sí.

- **Nivel de higiene bucal** (20): según el índice de placa dental evidente de Silness y Loe modificado.

Tipo de variable: categórica, politómica, ordinal.

Categorías: bueno, regular y deficiente.

- **Consumo de entre comidas al día** (40): obtenida la información del cuestionario del estudio 1.

Tipo de variable: categórica, politómica, ordinal

Categorías: 1 vez al día/ no se cepilla, 2 veces al día, 3 veces al día



- **Consumo de golosinas al día(40):** obtenida la información del cuestionario del estudio 1.

Tipo de variable: categórica, politómica, nominal.

Categorías: A veces/Ninguno, 1 a 2 veces, > 3 veces.

- **pH salival(88):** obtenida a través de la saliva del niño y medida por un pH metro portátil.

Tipo de variable: cuantitativa, continua, razón.

#### **2.4.6. Procesamiento y análisis estadístico.**

Para cada variable categórica como caries infancia temprana, nivel de higiene bucal, consumo de golosinas, consumo de entre comidas, uso de pasta dental con flúor y cepillado dental, se calculó frecuencias relativas y absolutas. Para las variables numéricas, como concentración de *S. dentisani*, concentración de *S. mutans* y pH salival se calculó medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar).

Previo al análisis de las variables se evaluó la distribución normal de los datos con la prueba de Shapiro Wilk, como consecuencia se realizaron las pruebas estadísticas pertinentes para cada variable. Para comparar la concentración de *S. dentisani* en niños con y sin CIT, se realizó la prueba no paramétrica de Mann Whitney, así como también para las covariables: consumo de entre comidas y uso de pasta dental con flúor. Para las variables politómicas consumo de golosinas al día y frecuencia de cepillado dental se realizó prueba de hipótesis no paramétrica de Kruskal Wallis. Para aquellas variables cuantitativas, como la concentración de *S.*

*mutans* y pH salival, se realizó la prueba de correlación no paramétrica de Spearman. Se consideró un nivel significancia de 0.05.

La magnitud de la asociación entre la concentración de *S. dentisani* y CIT se estimó mediante el cálculo de coeficientes de Beta ajustada por variables confusoras (Figura 6), aplicando el análisis de modelo lineal generalizado (GLM), donde se usó la familia Gausiana con vínculo identidad. Se reportó sus intervalos de confianza al 95%. Para el análisis multivariado, se incluyeron aquellas variables con un valor  $p < 0.20$  en el análisis bivariado o aquellas con relevancia clínica o epidemiológica.

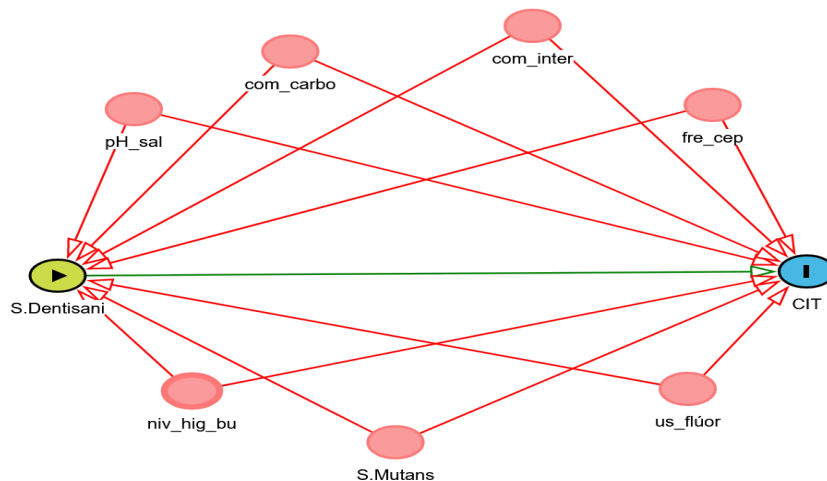


Figura 6. DAG de la asociación entre concentración de *S. dentisani* y CIT. que permite identificar y controlar variables de confusión, y establecer posibles relaciones causales.

#### 2.4.7. Potencia estadística

Como se trató de un estudio proveniente de una cohorte de nacimiento existente, se consideró adecuado hacer el cálculo de la potencia con un tamaño de muestra de 204 niños y teniendo en consideración la siguiente información: la media de concentración de *S. dentisani*(ng/ $\mu$ l) en placa dental en niños con

CIT 0.35 y sin CIT de 0.45(40); considerando un nivel de significancia de 5%, el poder estadístico hallado fue 96% (Anexo 10), Los cálculos se realizaron usando el programa estadístico STATA versión 17.

## 2.5. Resultados

### 1. Concentración del *S. dentisani* y del *S. mutans* en la población de estudio

En placa dental, la concentración media del *S. dentisani* fue mayor que del *S. mutans*:  $3.57 \times 10^6 \pm 1.22 \times 10^6$  UFC/ng de ADN y  $2.22 \times 10^6 \pm 3.82 \times 10^6$  UFC/ng de ADN, respectivamente. Igualmente, en saliva se halló concentraciones de *S. dentisani* de  $5.15 \times 10^{13} \pm 1.37 \times 10^{14}$  UFC/ ml mayores que las concentraciones de *S. mutans* que fue de  $5.45 \times 10^7 \pm 4.17 \times 10^8$  UFC/ml. (Tabla 12)

Tabla 12. Concentración de *S. dentisani* y *S. mutans* en placa dental y saliva (n=204).

Concentración	Total (n= 204)	
	Media $\pm$ Desviación Estándar	Mediana $\pm$ RIQ
<b>Bacterias</b>		
En placa dental (UFC/ng de ADN)		
<i>S. dentisani</i>	$3.57 \times 10^6 \pm 1.22 \times 10^6$	$3.73 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^6$
<i>S. mutans</i>	$2.22 \times 10^6 \pm 3.82 \times 10^6$	$2.04 \times 10^6 \pm 6.22 \times 10^6$
En saliva (UFC/ml)		
<i>S. dentisani</i>	$5.15 \times 10^{13} \pm 1.37 \times 10^{14}$	$3.84 \times 10^{10} \pm 1.78 \times 10^{13}$
<i>S. mutans</i>	$5.45 \times 10^7 \pm 4.17 \times 10^8$	$8.49 \times 10^3 \pm 3.13 \times 10^4$

RIQ: Rango Intercuartil.

## **Resultado del análisis bivariado.**

### **1. Análisis bivariado entre la concentración de *S. dentisani* (UFC/ng ADN) en muestras de placa dental y factores sociodemográficos, hábitos de higiene bucal, hábitos cariogénicos, pH salival, CIT.**

Se realizó análisis bivariado para investigar las variables asociadas con *S. dentisani* en la placa dental. Se identificó que la mediana de la concentración de esta bacteria fue de  $6.24 \times 10^3$  UFC/ng de ADN en aquellos individuos que a veces o no consumían golosinas diariamente, y de  $2.67 \times 10^3$  UFC/ng de ADN en aquellos que sí consumían estos carbohidratos más de tres veces al día. Esta diferencia mostró significancia estadística ( $p=0.013$ ). En relación con la higiene bucal, se observó que la mediana de la concentración de *S. dentisani* fue de  $9.36 \times 10^3$  UFC/ng de ADN en aquellos con buena higiene, y en aquellos con higiene deficiente presentaron una concentración de  $5.06 \times 10^3$  UFC/ng de ADN. Esta diferencia también no resultó estadísticamente significativa ( $p=0.250$ ). (Tabla 17)

En cuanto al número de lesiones cariosas y su relación con la concentración de *S. dentisani*, se encontró una correlación negativa ( $\rho = -0.087$ ), aunque esta relación no presentó significancia estadística ( $p=0.217$ ). En ausencia de CIT, se registraron concentraciones de *S. dentisani* de  $6.62 \times 10^3$  UFC/ng de ADN, y en aquellos con CIT la concentración fue de  $4.40 \times 10^3$  UFC/ng de ADN; esta diferencia fue estadísticamente significativa ( $p=0.036$ ). No se encontró diferencia en la concentración del *S. dentisani* según las categorías de las otras variables se aprecia en la tabla 13.

Tabla 13. Asociación del *S. dentisani* con covariables, análisis bivariado.

VARIABLES	Mediana	Rango Intercuartil	p
<b>Sexo del Niño</b>			0.327 <sup>a</sup>
Masculino	6.30 x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.28x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
Femenino	4.25 x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.09x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
<b>Edad del niño (meses)*</b>	0.0046*		0.948 <sup>b</sup>
<b>Edad del niño (años)</b>			0.581 <sup>c</sup>
3 años	3.98 x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.09x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
4 años	5.86 x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.23x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
5 años	6.02 x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.38x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
<b>Hábitos de salud bucal</b>			
Frecuencia de cepillado dental			0.203 <sup>c</sup>
1 vez al día/No se cepilla	3.64x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.28x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
2 veces al día	6.36x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.14x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
3 veces al día	5.44x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.29x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
Uso de pasta dental con flúor			0.306 <sup>a</sup>
No	5.54x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.24x10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	
Si	4.50x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.12x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
<b>Dieta Cariogénica</b>			
Consumo de golosinas al día			<b>0.015<sup>c</sup></b>
A veces/ Nunca	6.24x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.88x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
1-2 veces	5.44x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.12x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
3 o más veces	2.30x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.29x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
Consumo de alimentos entre comidas al día			0.235 <sup>a</sup>
1 a 2 veces	5.73x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.89x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
> 3 veces	4.30x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.09x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
<b>Factores biológicos</b>			
pH salival	0.0186*		0.792 <sup>b</sup>

\* rho de Spearman; a: Prueba Mann Whitney b: Prueba de correlación de Spearman; Prueba Kruskal Wallis.

Continuación

Variables	Mediana	Rango Inter cuartil	P
<b>Condiciones bucales</b>			
Nivel de higiene bucal según Índice Silness-Löe modificado			<b>&lt;0.001<sup>c</sup></b>
Bueno	9.36 x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	2.03x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
Regular	4.19 x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.09x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
Deficiente	5.06 x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.13x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
Número de lesiones cariosas		<b>-0.125*</b>	0.076 <sup>b</sup>
Caries de infancia temprana según ICDAS II			<b>0.036<sup>a</sup></b>
Ausencia	6.62 x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.52x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	
Presencia	4.40 x 10 <sup>3</sup> UFC/ng de ADN	1.13x10 <sup>4</sup> UFC/ng de ADN	

\* rho de Spearman

a: Prueba Mann Whitney

b: Prueba de correlación de Spearman

c: Prueba kruskal Wallis

### 3. Correlación entre *S. dentisani* y el *S. mutans* en muestra de saliva y placa dental.

Con respecto a las relaciones entre el *S. dentisani* y *S. mutans* se halló que en placa dental presentó una correlación ligeramente positiva ( $\rho=0.037$ ) (Figura 8), este resultado no fue estadísticamente significativo ( $p=0.598$ ). Mientras en las muestras de saliva, se presentó una correlación ligeramente positiva ( $\rho=0.156$ ) entre las dos bacterias (Figura 9), este resultado fue estadísticamente significativo ( $p=0.026$ ). (Tabla 14)

Tabla 14. Correlación entre *S. dentisani* y *S. mutans* en placa dental y saliva (n=204).

Bacterias	<i>S. dentisani</i>	<i>p</i>
<i>S. mutans</i> *	0.037‡	0.598
<i>S. mutans</i> **	0.156‡	<b>0.026</b>

\*En muestras de placa dental  
 \*\*En muestras en saliva  
 ‡ Correlación de Rho Spearman

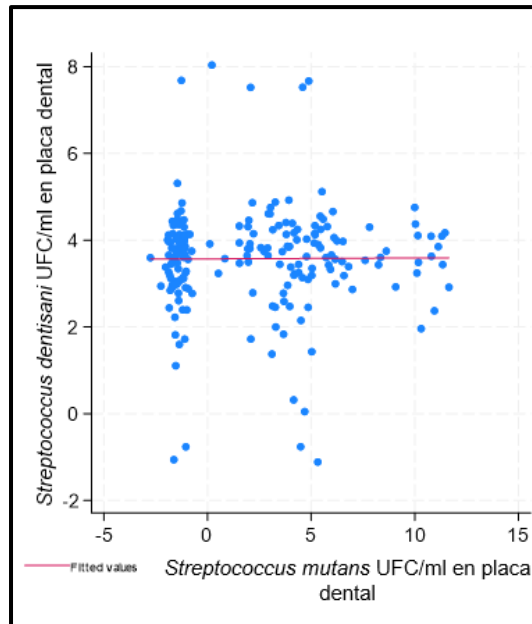


Figura 7. Correlación entre las concentraciones de *S. dentisani* y *S. mutans* en UFC/ng de ADN, en muestras de placa dental, expresado en logaritmo base 10.



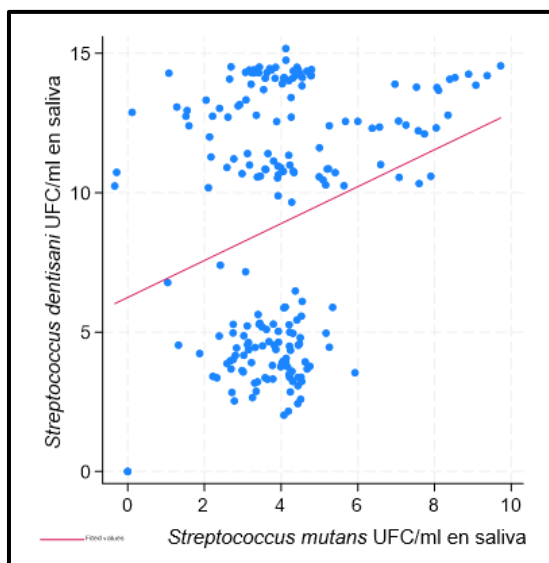


Figura 8. Correlación entre las concentraciones de *S. dentisani* y *S. mutans* en UFC/ng de ADN, en muestras de saliva, expresado en logaritmo base 10

**5. Correlación entre *S. dentisani* y el número de las lesiones cariosas en muestras de placa dental.**

Con respecto a la relación entre el número de lesiones cariosas y las bacterias estudiadas, encontramos una correlación negativa baja ( $\rho=-0.125$ ) (Tabla 15) entre la concentración de *S. dentisani* y número de lesiones cariosas, pero este resultado no fue estadísticamente significativo ( $p=0.076$ ). (Tabla 15)

Tabla 15. Correlación entre *S. dentisani* y el número de lesiones cariosas en muestras de placa dental (n=204).

Bacterias	Número de lesiones cariosas	
	Rho	P
<i>S. dentisani</i>	-0.125*	0.076

\*Correlación de Rho Spearman

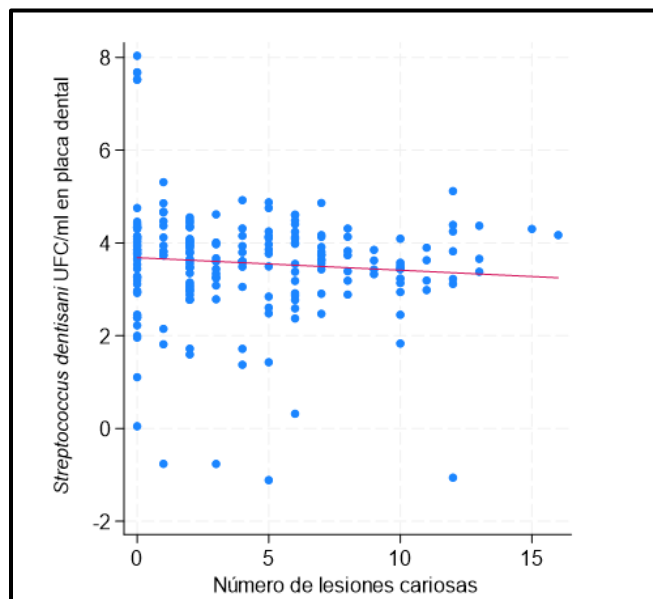


Figura 18. Correlación entre concentración de *S. dentisani* en UFC/ng de ADN, expresado en logaritmo base 10, y el número de lesiones cariosas en muestras de placa dental.

## 6. Análisis multivariado

En el análisis multivariado, se evaluó la asociación entre concentración de *S. dentisani* en UFC/ng de ADN, utilizando la transformación logarítmica en base 10 y CIT, ajustando por la frecuencia de cepillado dental, el uso de pasta dental con flúor, el consumo diario de golosinas, la frecuencia de consumir alimentos entre comidas, el pH salival y el nivel de higiene bucal. Se observó que, el promedio de la concentración de *S. dentisani* fue 0.52 UFC/ng de ADN menor en niños con CIT (IC 95%; -1.00, -0.03) ajustado por las variables mencionadas. Además, se identificó que el promedio de concentración de *S. dentisani* fue de 0.65 UFC/ml de ADN menor en niños que consumían golosinas una o dos veces al día en comparación con aquellos que no los consumían, (IC al 95%; -1.13, -0.16). (Tabla 16)

Tabla 16. Análisis multivariado entre CIT y concentración de *S. dentisani* en UFC/ng de ADN expresado en logaritmo en base 10, ajustado por variables confusoras.

Variables	SIN AJUSTAR			AJUSTADO		
	Concentración <i>S. dentisani</i> (log <sub>10</sub> UFC/ng de ADN)			Concentración de <i>S. dentisani</i> (log <sub>10</sub> UFC/ng de ADN)		
	Coef.β	IC 95%	p	Coef.β	IC 95%	p
<b>Caries de infancia temprana</b>						
Ausencia	Ref.			Ref.		
Presencia	-0.39	-0.77 - -0.01	<b>0.046</b>	-0.52	-1.00 - -0.03	<b>0.036</b>
<b>Hábitos de salud bucal</b>						
Frecuencia de cepillado dental (día)						
1 vez al día/No se cepilla	Ref.			Ref.		
2 veces al día	-0.31	-0.77 - 0.15	0.191	-0.35	-0.81 - 0.11	0.137
3 veces al día	0.03	-0.45 - 0.50	0.908	0.07	-0.42 - 0.55	0.781
Uso de pasta dental con flúor						
No	Ref.			Ref.		
Si	-0.07	-0.89 - 0.74	0.859	-0.27	-1.10 - 0.56	0.518
<b>Dieta cariogénica</b>						
Frecuencia de consumo de golosinas al día						
A veces/ Nunca	Ref.			Ref.		
1-2 veces	-0.60	-1.03 - -0.16	<b>0.007</b>	-0.65	-1.13 - -0.16	<b>0.009</b>
3 o más veces	-0.50	-1.15 - 0.16	0.137	-0.45	-1.14 - 0.25	0.208
Consumo de alimentos entre comidas al día						
1 a 2 veces	Ref.			Ref.		
> 3 veces	-0.14	-0.50 - 0.21	0.431	0.04	-0.35 - 0.43	0.830
<b>Factores biológicos</b>						
pH salival	0.07	-0.03 - 0.16	0.170	0.08	-0.02 - 0.18	0.108
<b>Condiciones bucales</b>						
Nivel de higiene bucal según índice Silness-Löe modificado						
Bueno	Ref.			Ref.		
Regular	-0.07	-0.56 - 0.43	0.790	0.09	-0.44 - 0.62	0.741
Deficiente	-0.17	-0.66 - 0.32	0.492	0.25	-0.35 - 0.86	0.407

Coef.: Coeficiente, IC: Intervalo de Confianza; Modelo lineal generalizado.

## 2.6. Discusión.

En el presente estudio se evidenció una mayor concentración de *S. dentisani* en niños sin CIT que en niños con CIT, ajustado por otras variables. Esta observación es consistente con el estudio de López-Santacruz et al. (27), quienes sostienen que la presencia de estas bacterias es beneficiosa y podría tener un efecto protector contra la caries dental. También sugieren que estos organismos pueden prosperar en un estado bucodental saludable (115).

Se han realizado estudios sobre la aplicación tópica del *S. dentisani*, y parece mejorar varias características clínicas asociadas con la salud bucal, como la aglomeración de placa dental, la calidad de la saliva y el flujo salival (38,122). Además, se ha observado una mejora en la disbiosis bacteriana asociada a la enfermedad. Algunos de estos beneficios pueden atribuirse a la actividad antimicrobiana de las bacteriocinas del *S. dentisani* y a su capacidad de amortiguación del pH mediante la vía arginolítica de iminasa (ADS)(122) donde se produce citrulina, ornitina, CO<sub>2</sub>, adenosina trifosfato (ATP) y amoníaco. La generación de amoníaco a partir del metabolismo de la arginina ocasiona un aumento del pH citoplasmático y en el ambiente oral, brindando mecanismos a las bacterias orales como: protección contra la muerte celular, aumento de pH y la síntesis de ATP, mantenimiento de un pH salival relativamente neutral que beneficia la persistencia de las bacterias ADS-positivas (ADS +) mientras es competitivo contra los patógenos de caries (119).

Los hallazgos en el presente estudio indican que la concentración de *S. dentisani* es menor con una mayor ingesta de golosinas. De la misma manera, el impacto de la dieta en la microbiota oral ha sido evidenciado en diversos estudios, especialmente en aquellos relacionados con la frecuente mayor de ingesta de carbohidratos fermentables, como los azúcares (40,110). En estos casos, se observa una alteración de la homeostasis microbiana con una predominancia de especies acidogénicas y tolerantes a los ácidos (40), las cuales son los encargados del desarrollo de la caries, como en el caso de *S. mutans*.

Por el contrario, una dieta óptima para la salud bucal reduce las especies bacterianas con características cariogénicas en el placa dental y la saliva (40), incrementando la presencia de microorganismos que favorecen la salud oral, como *S. dentisani*, con pH de crecimiento óptimo se sitúa entre 7 y 7.5 (39,40) . Un pH inferior, como el establecido por las bacterias cariogénicas, puede afectar negativamente el crecimiento de esta bacteria beneficiosa en condiciones naturales de la cavidad oral, es decir, con un bajo suministro de arginina (40,117).

Por otro lado, la frecuencia de consumo alimentos/productos entre las comidas principales no se hallaron resultados resaltantes en el presente estudio; por el contrario, Angarita et al., hallaron que los niños con una frecuencia máxima de consumo de carbohidratos fermentables de tres veces mostraron una cuantificación significativamente mayor de *S. dentisani* que los niños con más de tres veces de consumo de alimentos. Esta diferencia podría explicarse con los cambios en el entorno bucal tras la ingesta de alimentos, lo que daría lugar a

diferencias en la multiplicación y permanencia de *S. dentisani*. Como consecuencia, el pH salival disminuiría, teniendo en cuenta que el intervalo óptimo de pH para esta bacteria se sitúa entre 7 y 7.5, cabría esperar que su crecimiento disminuye a medida que las condiciones alcanzaran un pH ácido (27,110). Asimismo, que después de ingerir estos carbohidratos, algunos microorganismos se activan metabólicamente y, mediante interacciones durante la formación de la placa dental(34,123,124), pueden influir en la presencia del *S. dentisani*. Esta influencia se debe a la competencia por nutrientes y espacio, o a la producción de sustancias tóxicas para las bacterias, como las bacteriocinas (40).

Con relación al uso de pasta con flúor, en el presente estudio se evidenciaron mayores concentraciones de *S. dentisani* en niños que usaban este producto, aunque no se observaron diferencias significativas. Al igual que el fluoruro, también se ha demostrado que la arginina es un agente anticaries eficaz (125). De manera similar, se ha demostrado que las formulaciones dentífricas que contienen fluoruro y arginina brindan mayor protección contra el inicio y la progresión de la caries (126–131). La razón es que muchas bacterias orales beneficiosas pueden transformar la arginina en amoníaco a través de la vía de la ADS, que es una base que amortigua eficazmente el pH ácido (132).

Por otro lado, se halló que las concentraciones del *S. dentisani* y del *S. mutans* presentan una correlación positiva en saliva. Si bien ambos pertenecen al mismo género *Streptococcus*, la presencia del *S. dentisani* podría deberse a que, a pesar de sus atributos para inhibir el crecimiento de bacterias productoras de caries

dental y amortiguar el pH ácido extracelular (29,32), coexiste con bacterias cariogénica entre ellas el *Streptococcus mutans*, manteniendo el equilibrio del medio bucal; sin embargo, no hay suficientes estudios para aclarar esta correlación(39,110).

Los resultados hallados nos brindan indicios en la etapa preescolar, que abarca de los 3 a 5 años, donde la prevalencia de dientes no tratados oportunamente es alta, la presencia de *Streptococcus dentisani* es beneficiosa para la cavidad bucal. Sin embargo, aún no se ha definido si la concentración de este microorganismo dentro del placa dental en niños está condicionada por la presencia de otros microorganismos orales asociados a condiciones de salud bucal. (39).

## **2.7. Limitaciones.**

Entre las limitaciones del presente estudio tenemos que no es posible establecer una asociación temporal entre la presencia de los microorganismos y la aparición de CIT; sin embargo, dado que hay pocos estudios en preescolares, estos resultados nos permiten tener una primera aproximación del posible efecto beneficioso de *S. dentisani* en niños con dentición primaria específicamente. Tampoco sería posible generalizar los resultados a la población peruana ya que se trata de una muestra por conveniencia, sin embargo, los resultados podrían aplicar a otras poblaciones con características similares.

## **2.8. Recomendaciones.**

Se sugiere llevar a cabo investigaciones en recién nacidos e infantes para detectar y medir la presencia de *Streptococcus dentisani* en edades tempranas, pues de esta



manera se podría fomentar el conocimiento de su presencia al igual que otras bacterias que coexistan y que promuevan las funciones beneficiosas del *S. dentisani* y por ende puedan prevenir una enfermedad, que desencadena una serie de problemas que afecta la calidad de vida del niño y su entorno.

## **2.9. Conclusiones.**

El *Streptococcus. dentisani* podría ser un habitante normal de la cavidad bucal de los niños en edad preescolar, mostrando una concentración mayor en placa dental en niños sin CIT. Esto respaldaría su posible papel protector de la salud bucal.

## CAPÍTULO III

### Caracterización del microbioma oral en niños con y sin caries de la infancia temprana. Estudio exploratorio.

#### Resumen

**Objetivo.** Caracterizar el microbioma oral en niños de 3 y 4 años con y sin caries de la infancia temprana.

**Materiales y métodos.** El presente estudio fue exploratorio, donde se analizó muestras de saliva de 9 niños con CIT severa y 9 niños sin CIT. Estas muestras fueron recolectadas en niños entre los de 3 y 4 años, que residían en el distrito de Villa El Salvador, Perú. Consecuentemente, se extrajo el ADN de cada muestra y fue cuantificado utilizando el Qubit 4.0. Se envió a secuenciar muestras con concentraciones mayores a 10ng/μl de ADN. La preparación de las bibliotecas y la secuenciación estuvo a cargo de SeqCenter. LLC (EE. UU.). Se realizaron análisis bioinformáticos para construir relaciones filogenéticas, evaluar las abundancias relativas de las especies. Finalmente se realizó un análisis estadístico con el programa R Studio Versión 4.3.1.

**Resultados.** Se encontró diferencia de especies entre los niños con y sin CIT, así en los niños sin CIT destacaron la presencia del *Streptococcus phage* sp SL1, y del grupo de niños con CIT destaca la especie *Leptotrichia* sp oral taxón 847. Sin embargo, ambos grupos presentaron las mismas tres especies con mayor abundancia relativa: *Streptococcus mitis*, *Neisseria sicca* y *Veilonella párvula*.

**Conclusión.** El microbioma oral de saliva en los preescolares estudiados difiere entre los que presentan o no CIT, donde el *Streptococcus mutans* no presentó mayor abundancia en niños con CIT, si no la existencia de otras especies. Por otro lado, se

apreció la presencia de fagos como el *Streptococcus phage* sp SL1 en niños que no presentaron CIT.

**Palabras claves:** Microbioma Oral, Preescolares, Caries Dental

## **Abstract**

**Objective.** To characterize the oral microbiome in 3- and 4-year-old children with and without early childhood caries.

### **Material and Method.**

The present study was exploratory, where saliva samples from 9 children with severe CIT and 9 children without CIT were analysed. These samples were collected from children between the ages of 3 and 4 years, residing in the district of Villa El Salvador, Peru. Consequently, DNA was extracted from each sample and quantified using Qubit 4.0. Samples with DNA concentrations greater than 10ng/μl were sent for sequencing. Library preparation and sequencing was performed by SeqCenter. LLC (USA). Bioinformatic analyses were performed to construct phylogenetic relationships, assess relative abundances of species. Finally, statistical analysis was performed with R Studio Version 4.3.1.

**Result.** Differences in species were found between children with and without ECC, with the presence of *Streptococcus phage sp SL1* standing out in children without ECC and *Leptotrichia sp oral taxon 847* in the group of children with ECC. However, both groups presented three species with higher relative abundance: *Streptococcus mitis*, *Neisseria sicca* and *Veilonella párvula*.

**Conclusion.** The oral saliva microbiome in the preschoolers studied differed between those with and without ECC, where *Streptococcus mutans* was not more abundant in children with ECC, however, other species were present. On the other hand, the presence of phages such as *Streptococcus phage sp SL1* was observed in children without ECC.

**Keywords:** Microbiome, Children, Preschool, Dental Caries.

### 3.1. Introducción

La adquisición del microbioma oral comienza durante la vida fetal, y su transmisión se hace más compleja a partir del nacimiento. El microbioma oral se encuentra en un estado de equilibrio dinámico y muchas condiciones, como el tipo de parto, los hábitos de lactancia, el uso de antibióticos, el medio ambiente y los cambios fisiológicos, podrían influir en su composición(133).

A medida que el bebé crece, las comunidades microbianas evolucionan y aumentan su diversidad microbiana. Durante este periodo, el microbioma oral se caracteriza por una gran variabilidad y los conocimientos actuales indican que alcanza una estabilidad similar a la de los adultos en torno a los 2 años de edad (29,134).

El microbioma oral es mencionado como un grupo de microorganismos incluido, sus genes y sus metabolitos en un hábitat ecológico determinado. Se encuentra entre las microbiomas más complejos del cuerpo humano, con más de 700 especies bacterianas presentes (135). Debido a las limitaciones de la investigación microbiológica oral, durante mucho tiempo se ha considerado que *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* son patógenos específicos de la CIT. Sin embargo, desde una perspectiva ecológica, ahora se considera que la CIT surge cuando las alteraciones ambientales alteran el equilibrio del microbiota oral. Con el tiempo, predominan las bacterias que causan caries dental, lo que ocasiona la desmineralización y destrucción del tejido dental (136–138). Recientes estudios basados en el microbioma oral han implicado a la CIT a una gama mucho más amplia de bacterias acidogénicas y acidúricas, incluidos los *Streptococcus*, *Actinomyces spp.* y bifidobacterias como *Scardovia wiggsiae* en asociación con la

CIT (139,140). Asimismo, *Veillonella spp.* es más abundante en placa dental de niños con CIT en comparación con controles sin caries (141).

Las variaciones en el microbiota oral entre diferentes nichos ecológicos, así como las interacciones dentro y fuera del huésped durante el desarrollo de la CIT, aún no están claras. La saliva se considera un medio importante para reflejar las características microbianas orales individuales y de diversos estados patológicos (142). Existen diferencias significativas en la comunidad microbiana salival entre huéspedes con caries y huéspedes libres de caries (143,144). Sin embargo, pocos estudios han investigado la CIT en la saliva(145,146). Aún menos esta enfermedad con la placa dental(147).

Actualmente, con los avances de la tecnología molecular se presenta la secuenciación metagenómica Shotgun que ha demostrado un poder de discriminación mayor; sin embargo, el análisis bioinformático y filogenético posterior es más complejo y costoso (148). Esto permite la identificación de taxones microbianos que comprenden una comunidad con una resolución más alta que la secuenciación basada en ARNr gen 16S(149).

Si bien existen muchos estudios sobre microbioma oral en niños con caries, aún la información disponible sobre la descripción del microbioma oral en los niños es muy limitada, en especial en Latinoamérica; de esta manera el presente estudio tiene como objetivo caracterizar a través de una prueba piloto, el microbioma oral de niños en Perú con y sin CIT.

### **3.2. Materiales y métodos.**

En el presente estudio, las muestras de saliva provenían de niños de entre 3 y 4 años residentes en los sectores VII, IX, X y XI en el distrito de Villa El Salvador. Las

muestras fueron recolectadas durante la evaluación bucal explicado en el estudio 1, y donde se determinó la presencia y ausencia de CIT. Posteriormente, las muestras de saliva se transportaron y almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  para su análisis posterior, según se detalla en el apartado d. Muestras biológicas del ítem Recolección de datos del estudio 1. El presente estudio y los anteriores recibieron la aprobación del Comité de Ética Institucional de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (CIE-UPCH). (Anexo 1)

En este estudio se seleccionó muestras de manera no probabilística por conveniencia. Los criterios de inclusión fueron muestras de saliva de niños del estudio 1 niños que no estuvieron medicados con antibióticos durante 3 meses antes del estudio (información obtenida del cuestionario de hábitos de salud bucal del estudio 1). Mientras los criterios de exclusión fueron muestras con volumen menor a  $200\mu\text{l}$ , se puede observar en la figura 9 el flujograma del estudio.

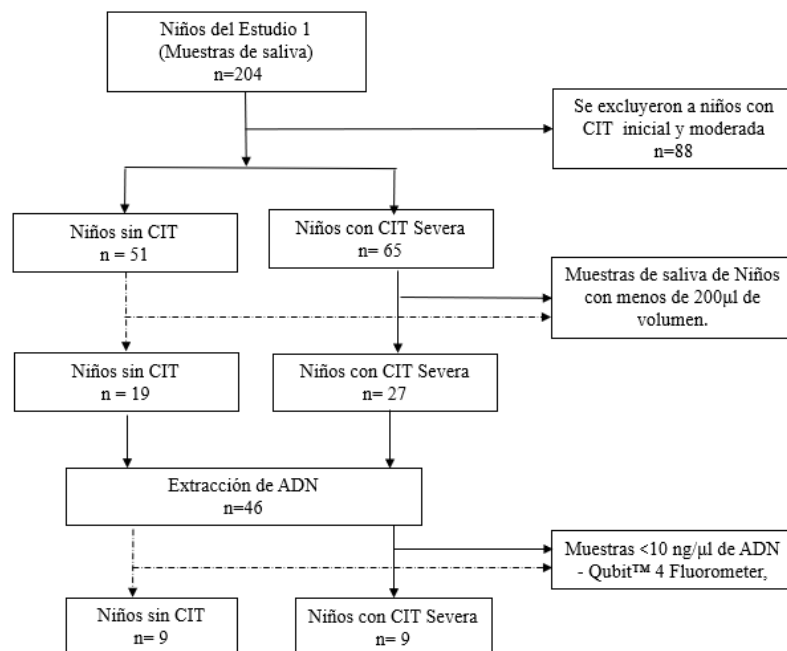


Figura 9. Diagrama de flujo del estudio 3.

Una vez seleccionadas las muestras para el presente estudio se procedieron a la extracción de ADN a través del kit comercial ZymoBIOMICS Quick-DNA™ Miniprep Plus Kit. Para este proceso se empleó 200 µl de saliva a los cuales se añadió 1 µL de lisozima, seguido de una incubación a 37°C durante 60 minutos con agitación a 800 rpm. Cada muestra de ADN obtenida se cuantificó utilizando el Qubit™ 4 Fluorometer, seleccionando aquellas con una concentración superior a 10 ng/µl. En consecuencia, se consideraron solo 18 muestras de saliva: Grupo 1: de 9 niños que presentaban CIT severa, y Grupo 2: de 9 niños sin CIT (Figura 10)

El ADN fue enviado al SeqCenter LLC (EE.UU.), para la preparación de las bibliotecas y la secuenciación metagenómica Shogtun.

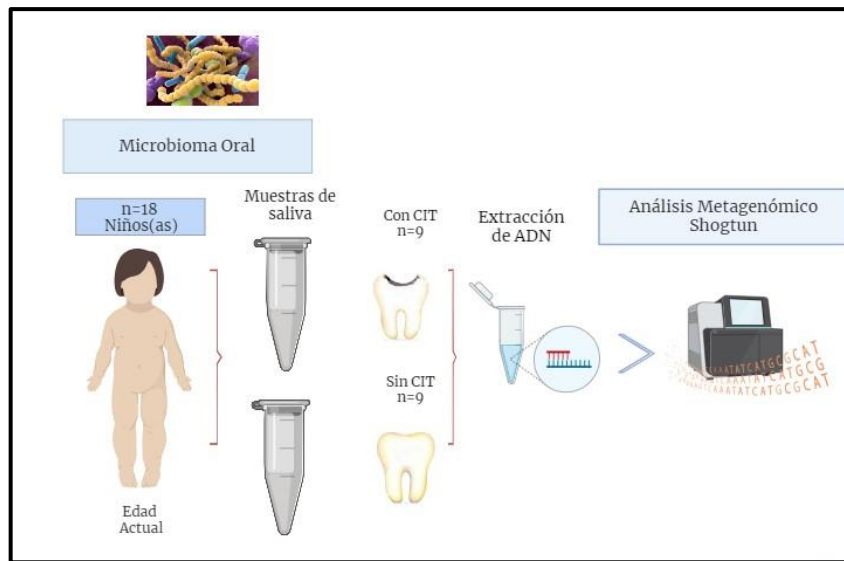


Figura 10. Diagrama de flujo del procesamiento del microbioma oral

### *Análisis bioinformático*

Los datos generados por SeqCenter ©, LLC, fueron reorganizados según los grupos: con CIT y sin CIT. Las abundancias relativas se procesaron y convirtieron en Kronagramas utilizando KronaTools(150) y se utilizó R Studio versión 4.3.1. Se



realizó el análisis de la distribución taxonómica de lecturas (*reads*) del microbioma de la saliva clasificadas por el sistema Kraken (151) por grupo.

Posteriormente, se generó una tabla resumen con los conteos de fragmentos de cada especie, en ambos grupos. Sólo se incluyeron aquellas especies con un conteo total superior a mil fragmentos entre todas las muestras para eliminar los falsos positivos (152). Por último, se filtraron las secuencias correspondientes a *Homo sapiens* y *Larimichthys crocea* (una especie de pez) por ser contaminantes no deseados. Estos datos se utilizaron en un análisis de abundancia diferencial entre los dos grupos, empleando el método de análisis discriminante lineal del tamaño del efecto, en inglés es Linear Discriminant Analysis (LDA) Effect Size, conocido como LEfSe (152).

LEfSe es un análisis que mide las diferencias en abundancia entre categorías específicas. El "tamaño de efecto" (effect size) indica la magnitud de la diferencia observada, y el LDA proporciona una discriminación lineal entre las categorías basada en dichas diferencias (152). Las gráficas fueron generadas usando el mismo paquete estadístico que se usó para el análisis, el cual se encuentra disponible en el servidor proporcionado por los autores del método original (152). Se optó por un umbral de LDA de 1.5, un alfa de 0.05 y un modelo de comparación uno contra todos (152). Para analizar las diferencias en la abundancia relativa de taxones microbianos entre los grupos con y sin caries se aplicó la prueba de Mann Whitney(152). Después de llevar a cabo el análisis de abundancia diferencial, se identificó las 20 especies más abundantes mediante el conteo de fragmentos por especie y se calcularon las abundancias relativas. Las especies que no estuvieron dentro de este top 20 se agruparon bajo la categoría "otros". Posteriormente, las

abundancias relativas se visualizaron en un gráfico de barras con el paquete de R Studio versión 4.3.1. ggplot2.

### 3.3. Resultados

En el presente estudio, las muestras de saliva provenían de niños, los cuales fueron divididos en dos grupos con CIT severa y sin CIT; 5 niños con CIT eran del sexo masculino (55.6 %), mientras 6 niños sin CIT fueron de del sexo masculino (66.7%). Con respecto a la edad, esta tuvo distribución similar en ambos grupos (Tabla 17).

Tabla 17. Distribución de las 18 muestras de saliva de los niños seleccionados

<b>Características de los niños</b>	<b>Con CIT 9 (50%)</b>	<b>Sin CIT 9 (50%)</b>
<b>Sexo del Niño</b>		
Femenino	4 (44.4)	3 (33.3)
Masculino	5 (55.6)	6 (66.7)
<b>Edad del Niño (años)</b>		
3 años	6 (66.7)	6 (66.7)
4 años	3 (33.3)	3 (33.3)

En las figuras 13 y 14 se muestra la distribución taxonómica de las lecturas (*reads*) del microbioma de la saliva clasificadas por Kraken (151) según grupo.

En el grupo con CIT se observó que, de todas las bacterias, los tres géneros más abundantes fueron: *Streptococcus* (10%), *Neisseria* (3.0%) y *Veilonella* (2.0%). Y en el grupo sin CIT, se observó que, del total de bacterias, los tres géneros más abundantes fueron: *Streptococcus* (11%), *Neisseria* (3.0%), *Veilonella* (2.0%).

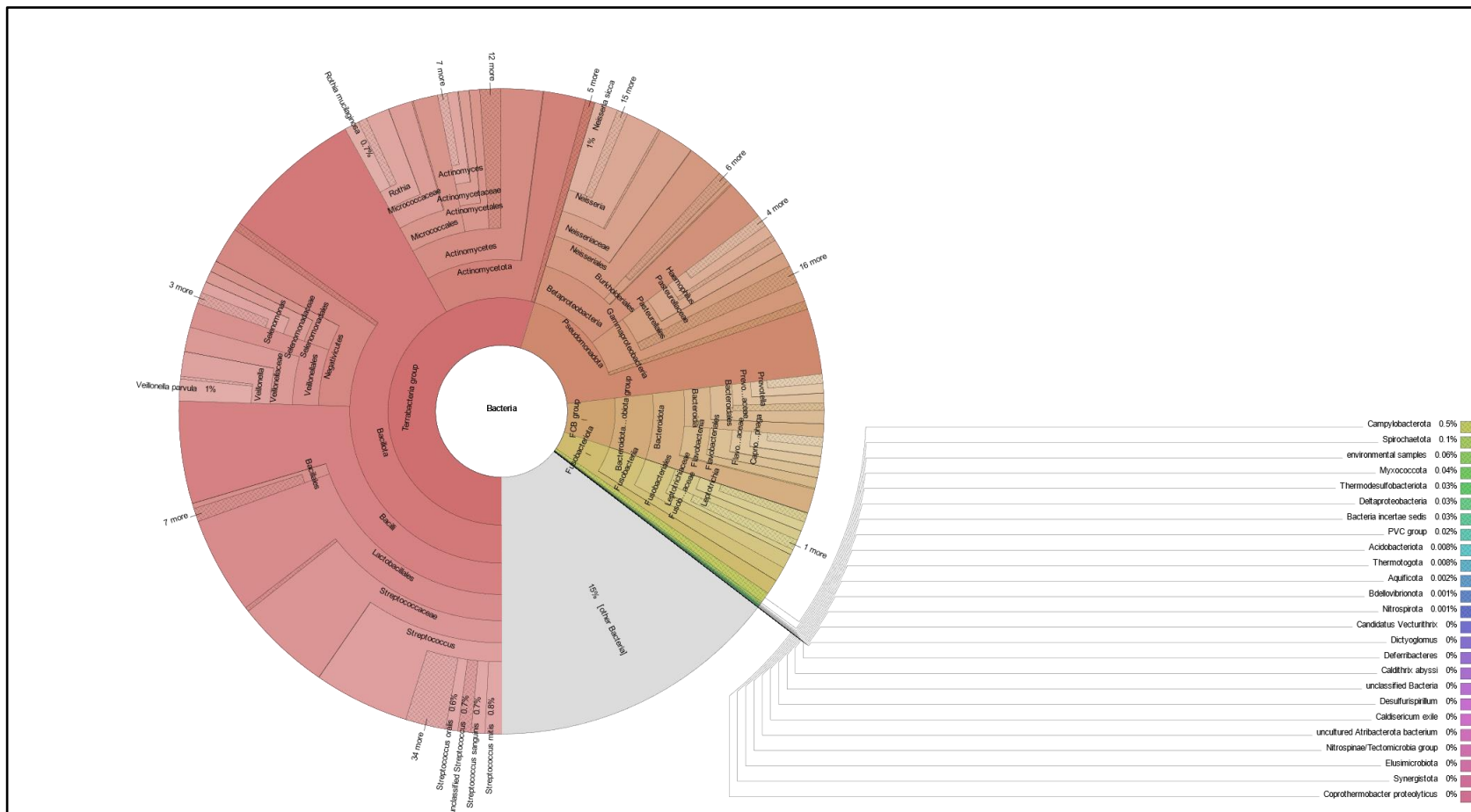


Figura 11. . Distribución taxonómica de las lecturas del grupo con CIT por Kraken.

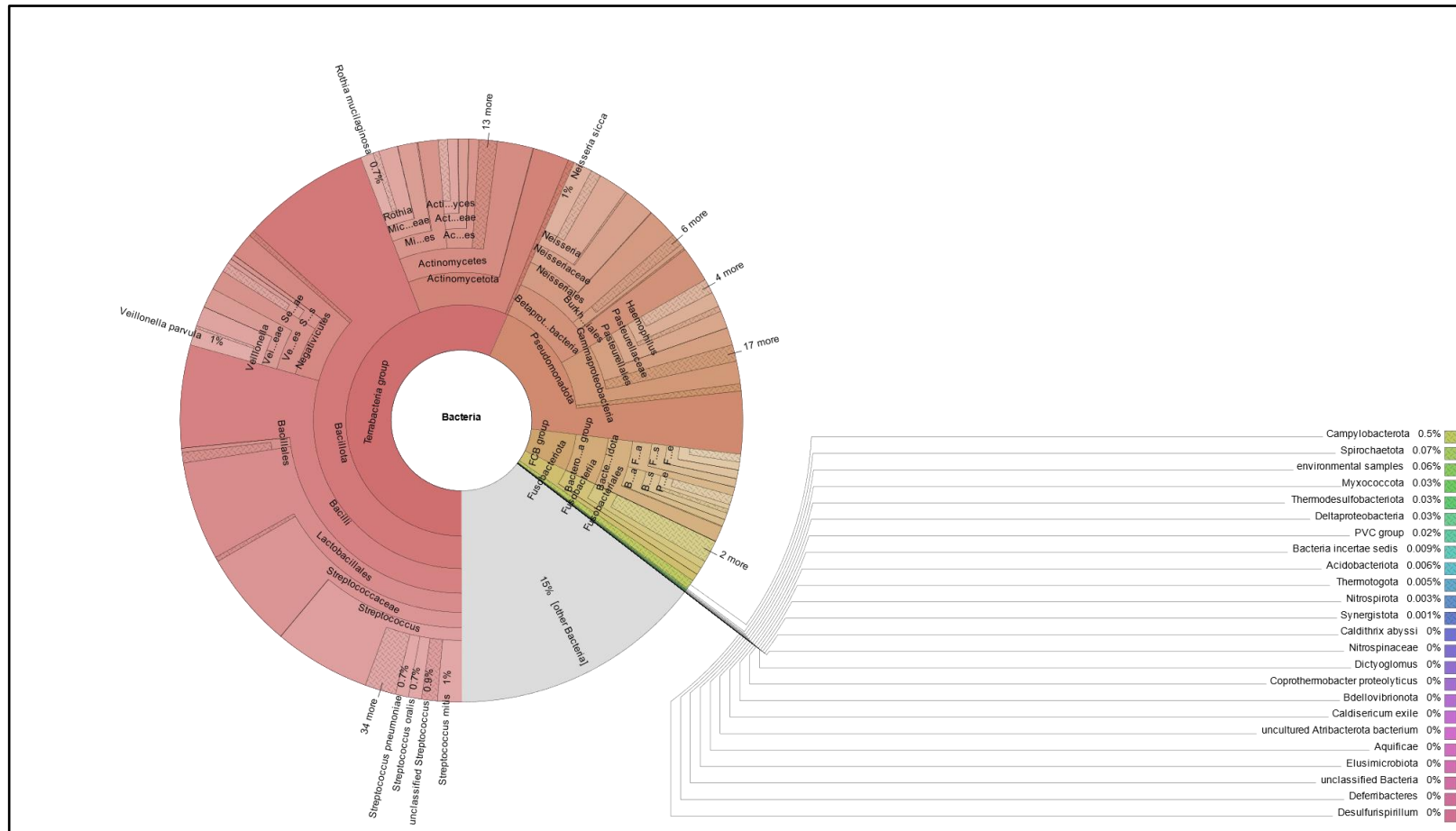


Figura 12. Distribución taxonómica de las lecturas del grupo sin CIT por Kraken

Distribución taxonómica promedio de abundancia relativa de las 20 especies más abundantes en el microbioma oral en los grupos con y sin CIT.

En el gráfico de barras (Figura 13) se visualiza la abundancia relativa de las 20 especies más abundantes en los grupos con y sin caries de infancia temprana, de las cuales se observa que *Neisseria sicca*, *Streptococcus mitis*, *Rothia mucilaginosa* y *Veillonella parvula* ocupan una gran parte del total de la abundancia microbial en estos dos grupos. (Figura 13).

En el grupo con CIT severa, las especies más abundantes, según el recuento de lecturas, fueron: *Neisseria sicca* (1.0%) *Veillonella parvula* (1.0%), y *Streptococcus mitis* (0.8%). Mientras que, en el grupo sin CIT, las especies más abundantes fueron: *Streptococcus mitis* (1.0%), *Neisseria sicca* (1.0%) y *Veillonella parvula* (1.0%).

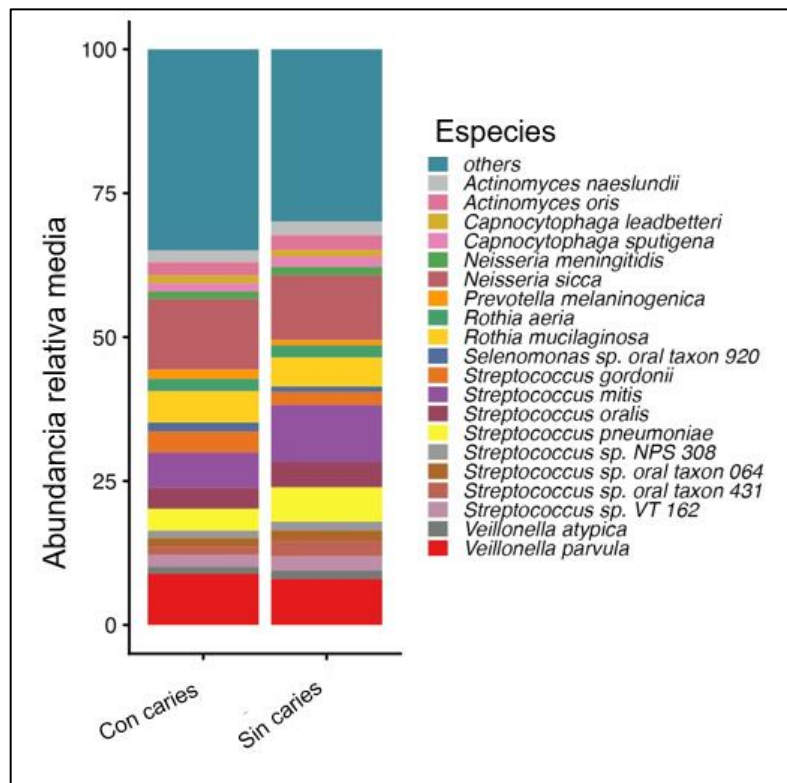


Figura 13. Abundancia relativa de los Top 20 especies en el microbioma oral de niños con caries y sin caries.

Grupos taxonómicos diferencialmente abundantes entre niños con y sin CIT.

Se observó diferencias en la abundancia relativa de taxones microbianos entre los grupos con y sin caries ( $p < 0.05$ ). Destacando en el grupo sin caries la presencia de virus y en particular, el *Streptococcus phage SpSL1*. Mientras en el grupo con CIT severa se observa *Leptotrichia buccalis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mutans* (Figura 14)

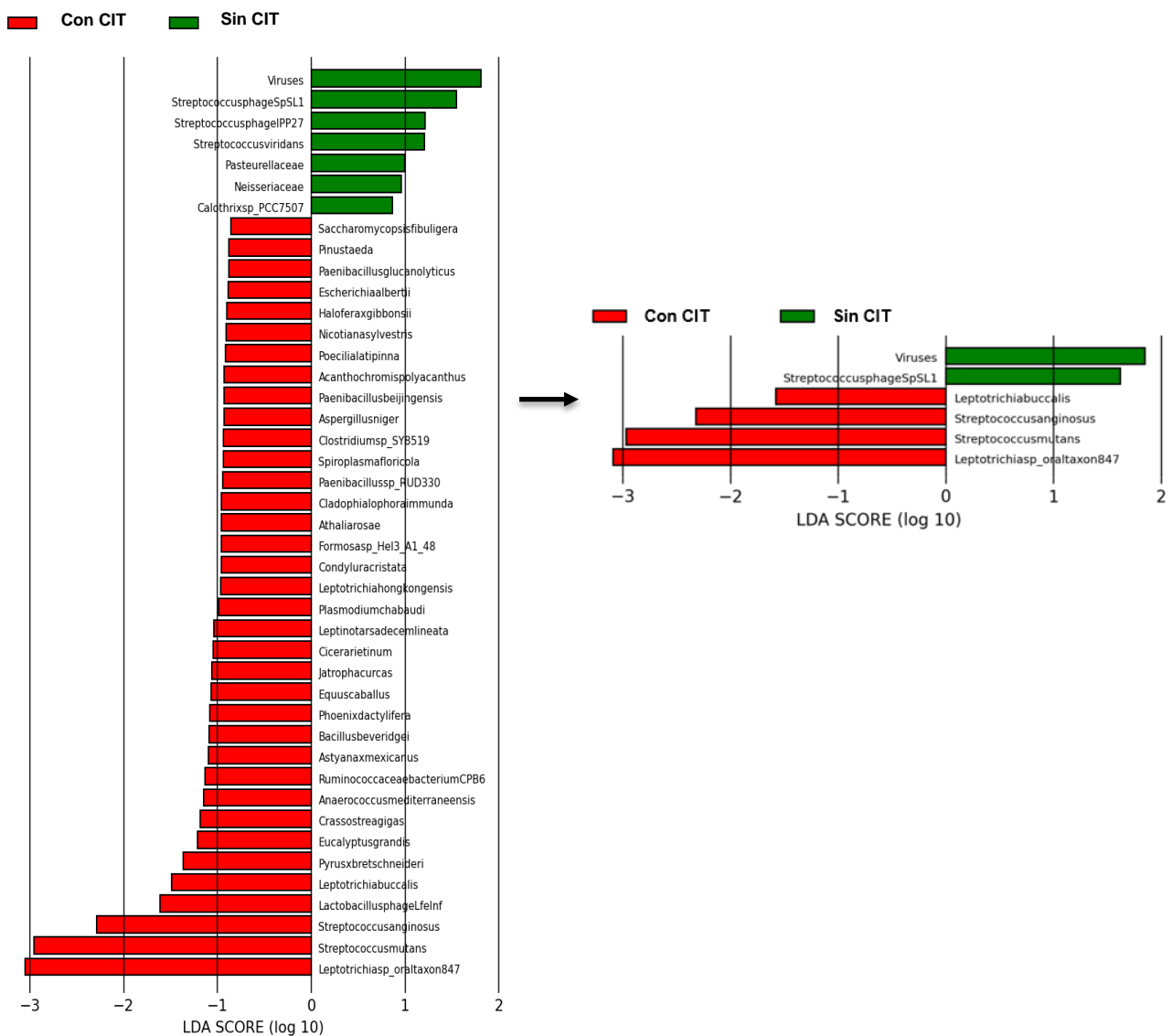


Figura 14. Comparación de los grupos taxonómicos entre el grupo con CIT y sin CIT, a través del análisis discriminante lineal del tamaño del efecto.

### 3.4. Discusión.

En el presente estudio, se analizaron un total de 18 muestras procedentes de niños de 3 a 4 años, las cuales fueron analizadas mediante secuenciación de metagenómica completa denominada Shotgun Metagenomics.

Este estudio presentó diferentes especies en cada grupo, con y sin CIT, según el análisis discriminante lineal del tamaño del efecto (LEfSe), así tenemos la presencia de *Streptococcus phage sp SL1* en el grupo de niños sin CIT; y presencia de *Leptotrichia buccalis* y *Leptotrichia sp oral taxon 847* en el grupo con caries. Adicionalmente tanto el grupo con y sin CIT existieron tres especies con mayor abundancia relativa: *Streptococcus mitis*, *Neisseria sicca* y *Veillonella párvula*.

El presente es el primer estudio que reporta un análisis metagenómico en muestras de saliva de niños preescolares. Algunos estudios mencionan que la saliva es considerado un medio importante para reflejar las características microbianas orales de los individuos y de diferentes patologías (142).

Estos hallazgos corroboran los resultados de estudios existentes que reportan la asociación de otras especies distintas al *Streptococcus mutans* sobre la caries dental(149,153), como *Veillonella párvula*, *Streptococcus neumoniae*, *Rothia mucilaginosa* y *Streptococcus mitis* (141,154,155). Mientras en nuestro estudio, encontramos en niños sin CIT a la *Veillonella párvula*, aunque según Liu S et al., estaría involucrada en el desarrollo de la caries dental (156) y la *Neisseria sicca*. Por otro lado, en concordancia con el estudio de Kressier et al. (154), encontramos que el *Streptococcus mutans* no resultó ser la principal especie vinculada a la caries en la infancia temprana(157). Según el estudio de Al-Hebshi NN et al., el *Streptococcus mutans* se identificó en muy baja abundancia y sólo mostró una



asociación significativa con la caries severa (149). Simón-Soro et al. descubrieron que, a pesar de un aumento significativo de la proporción de *Streptococcus mutans* con la progresión de la caries, otras especies eran mucho más abundantes en las lesiones cariosas (158,159). Estos hallazgos evocan el debate actual que cuestiona el papel principal en la caries dental del *Streptococcus mutans* (149).

Otro hallazgo en este estudio es la presencia del *Streptococcus phage Sp SL1* en el grupo de niños sin CIT, tal como menciona Kressier et al., en cuyo estudio hallaron fagos, aún no está claro cuál puede ser su papel, si alguno, en la caries dental o patología bucal e incluso en la salud bucal (154). Cada vez existen más pruebas que soportan que la caries dental es el resultado de una disbiosis en la que intervienen diferentes taxones microbianos orales en lugar de la actividad de un único taxón (160).

Ben-Zaken et al. señalan que el *S. mutans* juega un rol relevante en la caries dental, una enfermedad crónica altamente prevalente. Aunque el tratamiento de restauración de las lesiones cariosas no logra dirigirse específicamente a las bacterias patógenas y tiende a eliminar las bacterias comensales, la caries dental sigue siendo un desafío común. La terapia con bacteriófagos como agentes antibacterianos, está ganando interés globalmente. Sin embargo, hasta ahora, solo se han identificado algunos fagos contra el *S. mutans* (161), Así tenemos el estudio de Ben-Zaken et al. quienes aislaron y caracterizaron un nuevo fago llamado SMHBZ8, obtenido de cientos de muestras de saliva humana. Se secuenció y analizó el genoma de SMHBZ8, y se evaluó su eficacia contra el *S. mutans* en un modelo de dentina cariogénica humana. Este hallazgo podría representar el primer paso hacia el desarrollo de una terapia potencial con fagos para la caries dental. Los

beneficios fundamentales de esta terapia incluyen su alta especificidad hacia la cepa objetivo con un impacto mínimo en el microbioma comensal, su capacidad para multiplicarse y desaparecer junto con el patógeno, su origen natural y falta aparente de toxicidad, así como su relativa facilidad de aislamiento y manipulación genética. Además, los fagos pueden co-evolucionar con las bacterias resistentes y destruir eficazmente biopelículas, una tarea difícil para los antibióticos convencionales. (161–164).

Así mismo, en el presente estudio se encontró presencia de *Streptococcus phage Sp SL1* en el grupo de niños sin CIT, y de *Leptotrichia buccalis* y *Leptotrichia sp oral taxon 847* en el grupo con caries. Caso contrario hallaron Nezar et al. quienes encontraron *Leptotrichia sp. oral taxon 225* en niños sin caries y *Streptococcus phage M102* en niños con caries dental (149). Jiang et al encontraron *Fusobacterium periodonticum* y *Leptotrichia sp. El clon oral FP036* más abundante en niños sin caries (165). Esto puede deberse a la diferencia de tamaño de muestra, la edad de los niños y el tipo de muestras (placa dental o saliva), que podrían indicar la diferencia de especies en ambos grupos.

El presente estudio es una primera visión del microbioma oral en los niños peruanos, y se necesita mayores estudios con tamaños de muestras amplios, en muestras de placa dental pues está directamente asociado a la CIT, de esta manera no solo descubrir taxones microbianos en los diferentes tipos de lesiones cariosas, si no también aquellos factores que podrían estar asociados con una buena salud bucal.

### **3.5 Limitaciones.**

El presente estudio presentó limitación de que el tamaño de la muestra fue pequeño y por esa razón fue exploratorio, pero que resulta significativo al ser uno de los primeros en detallar el microbioma oral en una población preescolar peruana, destacándose por su diversidad biológica.

### **3.6. Recomendaciones.**

Se recomienda realizar estudios longitudinales en el que las muestras se conserven en medios adecuado y de esta manera realizar estudios sobre la evolución del microbioma oral en el tiempo. Otra recomendación es la realización de estudios con diferentes zonas del país o de Latinoamérica, así de esta manera se podría hallar otros microorganismos asociados a la CIT o a la buena salud bucal.

### **3.7. Conclusiones.**

Se evidenció que el microbioma oral de los niños en edad preescolar es diferente entre el grupo con y sin CIT. El *Streptococcus mutans*, como otras especies, podrían estar asociadas con la CIT. Se observó la presencia de fagos en niños sin caries dental, sugiriendo que estos podrían tener un papel importante en el balance del microbioma oral, el cual debe ser investigado.

## **IV. ASPECTOS ÉTICOS**

Los estudios incluidos en la presente tesis obtuvieron la aprobación del Comité de Ética Institucional de la UPCH (CIE-UPCH) (ver Anexo 1) antes de su ejecución. Durante el estudio, se adhirieron a los principios éticos estipulados en la

Declaración de Helsinki y se cumplieron rigurosamente las recomendaciones del CIE-UPCH.

Este estudio constituyó una investigación original, que parte de una cohorte de nacimiento existente, e implicó la interacción con sujetos humanos. Los datos antropométricos recopilados a la edad de 1 y 2 años se extrajeron del estudio de cohortes, la cual obtuvo la aprobación del Comité de Ética bajo el registro SIDISI 65178 y contó con un consentimiento informado que permitía el contactarlos para futuros estudios. Antes del inicio del estudio, la madre y/o tutora legal firmó el consentimiento informado, otorgando permiso para la participación del niño en el estudio (Anexo 2). Para resguardar la confidencialidad, los datos de los participantes se codificaron. Como beneficio, se proporcionó de manera gratuita un kit de higiene bucal a la madre y/o tutor legal del niño, como incentivo para promover la higiene oral, y se ofreció asesoramiento sobre cuidados dentales, con la opción de derivarlos a un centro de salud cercano en caso de problemas bucales.

## V. CONCLUSIONES GENERALES

El presente estudio ha evidenciado que diversos factores afectan la CIT, particularmente se ha observado que el estado nutricional previo no condicionaría la caries dental a futuro; sin embargo, se muestra una relación inversa entre la CIT y el incremento del IMC para la edad en niños de 3-5 años. Por otro lado, la flora o microbiota bacteriana jugaría un rol importante y complejo. Por un lado, se evidencia el rol protector del *Streptococcus dentisani*, y afirma el rol del *Streptococcus mutans* como bacteria cariogénica y que seguramente habrá varias otras especies tal como se ha descrito en el microbioma oral en niños del presente estudio.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tinanoff N, Baez RJ, Diaz Guillory C, Donly KJ, Feldens CA, McGrath C, et al. Early childhood caries epidemiology, aetiology, risk assessment, societal burden, management, education, and policy: Global perspective. *Int J Paediatr Dent*. mayo de 2019;29(3):238-48.
2. Geneva: World Health Organization. Ending childhood dental caries: WHO implementation manual. [Internet]. 2021. Disponible en: <https://iris.who.int/handle/10665/340445>
3. Thang Le VN, Kim JG, Yang YM, Lee DW. Risk Factors for Early Childhood Caries: An Umbrella Review. *Pediatr Dent*. 15 de mayo de 2021;43(3):176-94.
4. Pitts NB, Baez RJ, Diaz-Guillory C, Donly KJ, Alberto Feldens C, McGrath C, et al. Early Childhood Caries: IAPD Bangkok Declaration. *J Dent Child Chic Ill*. 15 de mayo de 2019;86(2):72.
5. Early Childhood Caries: IAPD Bangkok Declaration. *Int J Paediatr Dent*. mayo de 2019;29(3):384-6.
6. Lingström P, Moynihan P. Nutrition, saliva, and oral health. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. junio de 2003;19(6):567-9.
7. Słotwińska SM, Słotwiński R. Host response, malnutrition and oral diseases. Part 2. *Cent-Eur J Immunol*. 2014;39(4):522-4.
8. Vieira KA, Bastos CM, Vitor MGC, Deana AM, Fernandes KPS, Rodrigues MFSD, et al. Use of low-level laser therapy on children aged 1 to 5 years with energy-protein malnutrition: A clinical trial. *Medicine (Baltimore)*. abril de 2018;97(17):e0538.
9. Malnutrición [Internet]. [citado 19 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>
10. UNICEF DATA [Internet]. [citado 20 de octubre de 2022]. Malnutrition in Children. Disponible en: <https://data.unicef.org/topic/nutrition/malnutrition/>
11. Ivey R, Kerac M, Quiring M, Dam HT, Doig S, DeLacey E. The Nutritional Status of Individuals Adopted Internationally as Children: A Systematic Review. *Nutrients*. 16 de enero de 2021;13(1):245.
12. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Desarrollo Infantil Temprano en niñas y niños menores de 6 años de edad, ENDES 2023 [Internet]. 2023 [citado 29 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://m.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/noticias/nota-de-prensa-n-040-2024-inei.pdf>

13. Ministerio de Salud Perú. Guía técnica para la valoración nutricional antropométrica de la niña y del niño de 0 a 11 año. [Internet]. 2024. Disponible en:  
<https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/5698810/5059776-resolucion-ministerial-n-034-2024-minsa.pdf?v=1705590701>
14. Sood S, Ahuja V, Chowdhry S. Reconnoitring the association of nutritional status with oral health in elementary school-going children of Ghaziabad City, North India. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. septiembre de 2014;32(3):197-201.
15. Saeed Hossain Khan, Md Nazmul Hasan, Sakiba Anjum, Tanzila Rafique. Is there is any relationship between malocclusion and nutritional pattern of children | *Update Dental College Journal*. 14 de julio de 2015 [citado 9 de junio de 2023]; Disponible en:  
<https://www.banglajol.info/index.php/UpDCJ/article/view/24041>
16. Tyszkowski M. Is There a Relationship between Nutrition, Facial Development, and Crowding of the Teeth? *Int J Orthod Milwaukee Wis*. 2016;27(1):15-7.
17. Hooley M, Skouteris H, Boganin C, Satur J, Kilpatrick N. Body mass index and dental caries in children and adolescents: a systematic review of literature published 2004 to 2011. *Syst Rev*. 21 de noviembre de 2012;1:57.
18. Li LW, Wong HM, Peng SM, McGrath CP. Anthropometric Measurements and Dental Caries in Children: A Systematic Review of Longitudinal Studies123. *Adv Nutr*. 7 de enero de 2015;6(1):52-63.
19. Chen D, Zhi Q, Zhou Y, Tao Y, Wu L, Lin H. Association between Dental Caries and BMI in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Caries Res*. 2018;52(3):230-45.
20. Vargas-Palomino KE, Chipana-Herquinio CR, Arriola-Guillén LE. Condiciones de salud oral, higiene oral y estado nutricional en niños que acuden a un establecimiento de salud de la región Huánuco, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. octubre de 2019;36(4):653-7.
21. Padilla-Cáceres T, Mamani-Cori V, Caballero-Apaza L, Cervantes-Alagón S, Arbildo-Vega H. Association between early childhood caries and nutritional status in children in a Peruvian social program. A cross-sectional study. *J Oral Res*. 5 de junio de 2024;13(1):112-21.
22. Alvarez JO, Lewis CA, Saman C, Caceda J, Montalvo J, Figueroa ML, et al. Chronic malnutrition, dental caries, and tooth exfoliation in Peruvian children aged 3-9 years. *Am J Clin Nutr*. agosto de 1988;48(2):368-72.

23. Alvarez JO, Eguren JC, Caceda J, Navia JM. The effect of nutritional status on the age distribution of dental caries in the primary teeth. *J Dent Res.* septiembre de 1990;69(9):1564-6.
24. Alvarez JO, Caceda J, Woolley TW, Carley KW, Baiocchi N, Caravedo L, et al. A longitudinal study of dental caries in the primary teeth of children who suffered from infant malnutrition. *J Dent Res.* diciembre de 1993;72(12):1573-6.
25. Escapa IF, Chen T, Huang Y, Gajare P, Dewhirst FE, Lemon KP. New Insights into Human Nostril Microbiome from the Expanded Human Oral Microbiome Database (eHOMD): a Resource for the Microbiome of the Human Aerodigestive Tract. *mSystems.* 2018;3(6):e00187-18.
26. Krishna HVNS, Manaswini E, Kumar VY, Bellamkonda P, Bhargava ASK, Jaidupally RR. Association between Nutritional Status and Early Childhood Caries in Indian Children. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2017;7(3):131-5.
27. López-Santacruz HD, López-López A, Revilla-Guarinos A, Camelo-Castillo A, Esparza-Villalpando V, Mira A, et al. *Streptococcus dentisani* is a common inhabitant of the oral microbiota worldwide and is found at higher levels in caries-free individuals. *Int Microbiol Off J Span Soc Microbiol.* noviembre de 2021;24(4):619-29.
28. Li J, Quinque D, Horz HP, Li M, Rzhetskaya M, Raff JA, et al. Comparative analysis of the human saliva microbiome from different climate zones: Alaska, Germany, and Africa. *BMC Microbiol.* 17 de diciembre de 2014;14:316.
29. Dzidic M, Collado MC, Abrahamsson T, Artacho A, Stensson M, Jenmalm MC, et al. Oral microbiome development during childhood: an ecological succession influenced by postnatal factors and associated with tooth decay. *ISME J.* septiembre de 2018;12(9):2292-306.
30. Allaker RP, Stephen AS. Use of Probiotics and Oral Health. *Curr Oral Health Rep.* 2017;4(4):309-18.
31. López-López A, Camelo-Castillo A, Ferrer MD, Simon-Soro Á, Mira A. Health-Associated Niche Inhabitants as Oral Probiotics: The Case of *Streptococcus dentisani*. *Front Microbiol.* 2017;8:379.
32. Mira A. Oral Microbiome Studies: Potential Diagnostic and Therapeutic Implications. *Adv Dent Res.* febrero de 2018;29(1):71-7.
33. Velsko IM, Chakraborty B, Nascimento MM, Burne RA, Richards VP. Species Designations Belie Phenotypic and Genotypic Heterogeneity in Oral *Streptococci*. *mSystems.* 2018;3(6):e00158-18.



34. Belda-Ferre P, Alcaraz LD, Cabrera-Rubio R, Romero H, Simón-Soro A, Pignatelli M, et al. The oral metagenome in health and disease. *ISME J.* enero de 2012;6(1):46-56.
35. Camelo-Castillo A, Benítez-Páez A, Belda-Ferre P, Cabrera-Rubio R, Mira A. *Streptococcus dentisani* sp. nov., a novel member of the mitis group. *Int J Syst Evol Microbiol.* enero de 2014;64(Pt 1):60-5.
36. Conrads G, Westenberger J, Lürkens M, Abdelbary MMH. Isolation and Bacteriocin-Related Typing of *Streptococcus dentisani*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019;9:110.
37. Esteban-Fernández A, Ferrer MD, Zorraquín-Peña I, López-López A, Moreno-Arribas MV, Mira A. In vitro beneficial effects of *Streptococcus dentisani* as potential oral probiotic for periodontal diseases. *J Periodontol.* noviembre de 2019;90(11):1346-55.
38. Ferrer MD, López-López A, Nicolescu T, Perez-Vilaplana S, Boix-Amorós A, Dzidic M, et al. Topic Application of the Probiotic *Streptococcus dentisani* Improves Clinical and Microbiological Parameters Associated With Oral Health. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:465.
39. Bedoya-Correa CM, Angarita-Díaz M del P, Padilla EAA, Jiménez PLL, Zapata JB. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus dentisani* in dental biofilm of children with different caries status: a pilot study. *Braz Dent Sci* [Internet]. 11 de septiembre de 2023 [citado 7 de octubre de 2023];26(3). Disponible en: <https://bds.ict.unesp.br/index.php/cob/article/view/3782>
40. Angarita-Díaz MP, Díaz JA, Tupaz HA, López-López A, Forero D, Mira A, et al. Presence of *Streptococcus dentisani* in the dental plaque of children from different Colombian cities. *Clin Exp Dent Res.* junio de 2019;5(3):184-90.
41. Pajuelo MJ, Noazin S, Cabrera L, Toledo A, Velagic M, Arias L, et al. Epidemiology of enterotoxigenic *Escherichia coli* and impact on the growth of children in the first two years of life in Lima, Peru. *Front Public Health.* 22 de marzo de 2024;12:1332319.
42. Abanto J, Da Silva Oliveira, Emanuella, Ferreira Antunes, José Leopoldo, Augusto Cardoso, Marly. Diretrizes para o estudo das condições nutricionais e agravos bucais dentro dos primeiros 1.000 dias de vida. *Rev Assoc Paul Cir Dent.* 2018;72(3):496-502.
43. Lama More RA. Metodología para valorar el estado nutricional. *Esp Pediatr.* 2001;55:256-9.
44. Mitsunaga A, Yamauchi T. Evaluation of the nutritional status of rural children living in Zambia. *J Physiol Anthropol.* 16 de noviembre de 2020;39:34.

45. Karpati J, de Neubourg C, Laillou A, Poirot E. Improving children's nutritional status in Cambodia: Multidimensional poverty and early integrated interventions. *Matern Child Nutr.* 4 de julio de 2020;16(Suppl 2):e12731.
46. Bilal S, Abdulla AM, Andiesta NS, Babar MG, Pau A. Role of family functioning and health-related quality of life in pre-school children with dental caries: a cross-sectional study. *Health Qual Life Outcomes.* 3 de agosto de 2021;19:192.
47. Castillo JL, Palma C, Cabrera-Matta A. Early Childhood Caries in Peru. *Front Public Health* [Internet]. 15 de noviembre de 2019 [citado 17 de marzo de 2021];7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6873793/>
48. Bencze Z, Mahrouseh N, Andrade CAS, Kovács N, Varga O. The Burden of Early Childhood Caries in Children under 5 Years Old in the European Union and Associated Risk Factors: An Ecological Study. *Nutrients.* 29 de enero de 2021;13(2).
49. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Instituto Nacional de estadística e Informática. Encuesta demográfica y de salud familiar ENDES 2018. Instituto Nacional de Estadística e Informática, editor. Lima; 2018. 406 p. [Internet]. Instituto Nacional de Estadística e Informatic; 2018. Disponible en: [https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales/Est/Lib1211/pdf/Libro.pdf](https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1211/pdf/Libro.pdf)
50. Pine CM, Harris RV, Burnside G, Merrett MCW. An investigation of the relationship between untreated decayed teeth and dental sepsis in 5-year-old children. *Br Dent J.* 14 de enero de 2006;200(1):45-7; discussion 29.
51. Alm A, Wendt LK, Koch G, Birkhed D, Nilsson M. Caries in adolescence - influence from early childhood. *Community Dent Oral Epidemiol.* abril de 2012;40(2):125-33.
52. Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A, et al. Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *J Dent Res.* julio de 2013;92(7):592-7.
53. Gondivkar SM, Gadbail AR, Gondivkar RS, Sarode SC, Sarode GS, Patil S, et al. Nutrition and oral health. *Dis--Mon DM.* junio de 2019;65(6):147-54.
54. Lai PY, Seow WK, Tudehope DI, Rogers Y. Enamel hypoplasia and dental caries in very-low birthweight children: a case-controlled, longitudinal study. *Pediatr Dent.* febrero de 1997;19(1):42-9.
55. Plonka KA, Pukallus ML, Barnett AG, Walsh LJ, Holcombe TF, Seow WK. A longitudinal study comparing mutans streptococci and lactobacilli

- colonisation in dentate children aged 6 to 24 months. *Caries Res.* 2012;46(4):385-93.
56. So M, Ellenikiotis YA, Husby HM, Paz CL, Seymour B, Sokal-Gutierrez K. Early Childhood Dental Caries, Mouth Pain, and Malnutrition in the Ecuadorian Amazon Region. *Int J Environ Res Public Health.* 22 de mayo de 2017;14(5):E550.
  57. Ismail AI, Sohn W, Lim S, Willem JM. Predictors of dental caries progression in primary teeth. *J Dent Res.* marzo de 2009;88(3):270-5.
  58. Sánchez-Pérez L, Sáenz-Martínez LP, Molina-Frechero N, Irigoyen-Camacho ME, Zepeda-Zepeda M, Acosta-Gío E. Body Mass Index and Dental Caries, a Five-Year Follow-Up Study in Mexican Children. *Int J Environ Res Public Health.* 11 de julio de 2021;18(14):7417.
  59. Rajshekar SA, Laxminarayan N. Comparison of primary dentition caries experience in pre-term low birth-weight and full-term normal birth-weight children aged one to six years. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2011;29(2):128-34.
  60. Zhou Y, Yang JY, Lo ECM, Lin HC. The contribution of life course determinants to early childhood caries: a 2-year cohort study. *Caries Res.* 2012;46(2):87-94.
  61. Aluckal E, Anzil K, Baby M, George EK, Lakshmanan S, Chikkanna S. Association between Body Mass Index and Dental Caries among Anganwadi Children of Belgaum City, India. *J Contemp Dent Pract.* 1 de octubre de 2016;17(10):844-8.
  62. Large J, Marshman Z. Does dental caries lead to stunting and wasting in children? *Evid Based Dent.* diciembre de 2022;23(4):144-5.
  63. Hayden C, Bowler JO, Chambers S, Freeman R, Humphris G, Richards D, et al. Obesity and dental caries in children: a systematic review and meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol.* agosto de 2013;41(4):289-308.
  64. Guaré RO, Perez MM, Novaes TF, Ciamponi AL, Gorjão R, Diniz MB. Overweight/obese children are associated with lower caries experience than normal-weight children/adolescents. *Int J Paediatr Dent.* noviembre de 2019;29(6):756-64.
  65. PPI [Internet]. [citado 11 de abril de 2022]. Poverty Probability Index. Disponible en: <https://www.povertyindex.org/>
  66. Organización Mundial de la Salud, Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF). Recomendaciones para la obtención de datos, el análisis y la elaboración de informes sobre indicadores antropométricos en niños menores de 5 años [Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud;

2019 [citado 20 de octubre de 2022]. Disponible en:  
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/330684>

67. Corrêa-Faria P, Paixão-Gonçalves S, Paiva SM, Pordeus IA. Incidence of dental caries in primary dentition and risk factors: a longitudinal study. *Braz Oral Res.* 20 de mayo de 2016;30(1):S1806-83242016000100254.
68. Guedes-Pinto A, Bönecker M, Martins C. *Fundamentos de Odontologia-Odontopediatria*. Primera. São Paulo: Santos; 2011. 468 p.
69. Hurley E, Barrett MPJ, Kinirons M, Whelton H, Ryan CA, Stanton C, et al. Comparison of the salivary and dentinal microbiome of children with severe-early childhood caries to the salivary microbiome of caries-free children. *BMC Oral Health.* 14 de enero de 2019;19(1):13.
70. Dikmen B. Icdas II criteria (international caries detection and assessment system). *J Istanb Univ Fac Dent.* 2015;49(3):63-72.
71. Pinto-Sarmento TC de A, Abreu MH, Gomes MC, Costa EMM de B, Martins CC, Granville-Garcia AF, et al. Determinant Factors of Untreated Dental Caries and Lesion Activity in Preschool Children Using ICDAS. *PloS One.* 2016;11(2):e0150116.
72. Parisotto TM, Stipp R, Rodrigues LKA, Mattos-Graner RO, Costa LS, Nobre-Dos-Santos M. Can insoluble polysaccharide concentration in dental plaque, sugar exposure and cariogenic microorganisms predict early childhood caries? A follow-up study. *Arch Oral Biol.* agosto de 2015;60(8):1091-7.
73. Megahed AA, Hiew M, Grünberg W, Trefz FM, Constable PD. Evaluation of the analytical performance of a portable ion-selective electrode meter for measuring whole-blood, plasma, milk, abomasal-fluid, and urine sodium concentrations in cattle. *J Dairy Sci.* agosto de 2019;102(8):7435-44.
74. Folayan MO, Oginni AB, El Tantawi M, Alade M, Adeniyi AA, Finlayson TL. Association between nutritional status and early childhood caries risk profile in a suburban Nigeria community. *Int J Paediatr Dent.* noviembre de 2020;30(6):798-804.
75. Piva F, Pereira JT, Luz PB, Hashizume LN, Hugo FN, Araujo FB de. A Longitudinal Study of Early Childhood Caries and Associated Factors in Brazilian Children. *Braz Dent J.* 2017;28(2):241-8.
76. Instituto Nacional de Salud del Niño-San Borja. *Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico y Tratamiento de la Obesidad. Unidad de atención integral Especializada. Sub Unidad de atención integral especializada pediátrica y sub especialidades endocrinología pediátrica.* 2020.

77. Olatosi OO, Alade AA, Naicker T, Busch T, Oyapero A, Li M, et al. Dental Caries Severity and Nutritional Status of Nigerian Preschool Children. *JDR Clin Transl Res.* abril de 2022;7(2):154-62.
78. Bassa S, Workie SB, Kassa Y, Tegbaru DW. Prevalence of dental caries and relation with nutritional status among school-age children in resource limited setting of southern Ethiopia. *BMC Oral Health.* 10 de febrero de 2023;23(1):84.
79. Folayan MO, El Tantawi M, Aly NM, Al-Batayneh OB, Schroth RJ, Castillo JL, et al. Association between early childhood caries and poverty in low and middle income countries. *BMC Oral Health.* 6 de enero de 2020;20(1):8.
80. Aung YM, Jelleyman T, Ameratunga S, Tin Tin S. Body mass index and dental caries in New Zealand pre-school children: A population-based study. *J Paediatr Child Health.* septiembre de 2021;57(9):1432-7.
81. Sokal-Gutierrez K, Turton B, Husby H, Paz CL. Early childhood caries and malnutrition: baseline and two-year follow-up results of a community-based prevention intervention in Rural Ecuador. *BMC Nutr.* 29 de noviembre de 2016;2(1):73.
82. Dimaisip-Nabuab J, Duijster D, Benzian H, Heinrich-Weltzien R, Homsavath A, Monse B, et al. Nutritional status, dental caries and tooth eruption in children: a longitudinal study in Cambodia, Indonesia and Lao PDR. *BMC Pediatr.* 14 de septiembre de 2018;18(1):300.
83. Psoter WJ, Pendry DG, Morse DE, Zhang H, Mayne ST. Associations of ethnicity/race and socioeconomic status with early childhood caries patterns. *J Public Health Dent.* 2006;66(1):23-9.
84. Amiresmaili M, Amini S, Shahravan A, Goudarzi R, Anari SHS, Anbari Z, et al. Relation between Socioeconomic Indicators and Children Dental Caries in Iran: A Systematic Review and Meta-analysis. *Int J Prev Med [Internet].* 14 de agosto de 2018 [citado 5 de mayo de 2021];9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6106133/>
85. Janakiram C, Antony B, Joseph J. Association of Undernutrition and Early Childhood Dental Caries. *Indian Pediatr.* 15 de agosto de 2018;55(8):683-5.
86. Rizzardi KF, Crescente CL, Indiani CMDSP, Steiner-Oliveira C, Nobre-Dos-Santos M, Parisotto TM. Early childhood caries, obesity and anthropometric measurements: Is there a relationship? *Front Nutr.* 2022;9:873562.
87. Dye BA, Shenkin JD, Ogden CL, Marshall TA, Levy SM, Kanellis MJ. The relationship between healthful eating practices and dental caries in children aged 2-5 years in the United States, 1988-1994. *J Am Dent Assoc* 1939. enero de 2004;135(1):55-66.

88. Psoter WJ, Spielman AL, Gebrian B, St Jean R, Katz RV. Effect of childhood malnutrition on salivary flow and pH. *Arch Oral Biol.* marzo de 2008;53(3):231-7.
89. Sánchez-Medina JG, Aragón-Martínez OH, Cepeda-Bravo JA, Aranda-Romo S. Evaluación del Efecto de un Gel con Arginina sobre el PH y Flujo Salival. *Int J Odontostomatol.* diciembre de 2021;15(4):989-96.
90. Perez MM, Pessoa JS, Ciamponi AL, Diniz MB, Santos MTBR, Alves HH de O, et al. Correlation of salivary immunoglobulin A with Body Mass Index and fat percentage in overweight/obese children. *J Appl Oral Sci Rev FOB.* 8 de noviembre de 2018;27:e20180088.
91. Nagpal R, Pandey S, Goel M, Kar A, Rapsang E, Matani P. Evaluation of Total Salivary Secretory Immunoglobulin A and *Mutans* -specific SIgA among Children having Dissimilar Caries Status. *J Contemp Dent Pract.* junio de 2018;19(6):651-5.
92. Fernández MR, Goettens ML, Demarco FF, Corrêa MB. Is obesity associated to dental caries in Brazilian schoolchildren? *Braz Oral Res.* 6 de noviembre de 2017;31:e83.
93. Angelopoulou MV, Beinlich M, Crain A. Early Childhood Caries and Weight Status: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pediatr Dent.* 15 de julio de 2019;41(4):261-72.
94. Marshall TA, Eichenberger-Gilmore JM, Broffitt BA, Warren JJ, Levy SM. Dental caries and childhood obesity: roles of diet and socioeconomic status. *Community Dent Oral Epidemiol.* diciembre de 2007;35(6):449-58.
95. Manohar N, Hayen A, Fahey P, Arora A. Obesity and dental caries in early childhood: A systematic review and meta-analyses. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* marzo de 2020;21(3):e12960.
96. Hegde S. Is there an association between body weight and early childhood caries experience? *Evid Based Dent.* septiembre de 2020;21(3):114-5.
97. Peres MA, de Oliveira Latorre M do RD, Sheiham A, Peres KG, Barros FC, Hernandez PG, et al. Social and biological early life influences on severity of dental caries in children aged 6 years. *Community Dent Oral Epidemiol.* febrero de 2005;33(1):53-63.
98. Jürgensen N, Petersen PE. Oral health and the impact of socio-behavioural factors in a cross sectional survey of 12-year old school children in Laos. *BMC Oral Health.* 16 de noviembre de 2009;9:29.
99. García Pérez A, Barrera Ortega CC, González-Aragón Pineda ÁE, Villanueva Gutiérrez T, Pérez Pérez NG, Calderon Uriostegui D. An inverse relationship between obesity and dental caries in Mexican schoolchildren: a cross-sectional study. *Public Health.* marzo de 2020;180:163-7.

100. Díaz-Rodríguez M, Carretero-Bravo J, Pérez-Muñoz C, Deudero-Sánchez M. Lockdown due to COVID-19 in Spanish Children Up to 6 Years: Consequences on Diet, Lifestyle, Screen Viewing, and Sleep. *Int J Public Health*. 3 de junio de 2022;67:1604088.
101. Arayess L, Knockaert N, Winkens B, Lubrecht JW, Verweij M, Vreugdenhil ACE. The Side-Effects of the COVID-19 Pandemic: Increased BMI z-Score in Children with Overweight and Obesity in a Personalised Lifestyle Intervention One Year after the Start of the Pandemic in The Netherlands. *Nutrients*. 5 de mayo de 2022;14(9):1942.
102. Neshteruk CD, Zizzi A, Suarez L, Erickson E, Kraus WE, Li JS, et al. Weight-Related Behaviors of Children with Obesity during the COVID-19 Pandemic. *Child Obes Print*. septiembre de 2021;17(6):371-8.
103. Feldens CA, Pinheiro LL, Cury JA, Mendonça F, Groisman M, Costa RAH, et al. Added Sugar and Oral Health: A Position Paper of the Brazilian Academy of Dentistry. *Front Oral Health [Internet]*. 2022 [citado 12 de abril de 2022];3. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/froh.2022.869112>
104. Chaffee BW, Feldens CA, Rodrigues PH, Vítolo MR. Feeding practices in infancy associated with caries incidence in early childhood. *Community Dent Oral Epidemiol*. agosto de 2015;43(4):338-48.
105. Ribeiro CCC, Silva MCB da, Nunes AMM, Thomaz EB de AF, Carmo CDS, Ribeiro MRC, et al. Overweight, obese, underweight, and frequency of sugar consumption as risk indicators for early childhood caries in Brazilian preschool children. *Int J Paediatr Dent*. noviembre de 2017;27(6):532-9.
106. Sheiham A, James WPT. Diet and Dental Caries: The Pivotal Role of Free Sugars Reemphasized. *J Dent Res*. octubre de 2015;94(10):1341-7.
107. Matsuyama Y, Isumi A, Doi S, Fujiwara T. Impacts of the COVID-19 Pandemic Exposure on Child Dental Caries: Difference-in-Differences Analysis. *Caries Res*. 2022;56(5-6):546-54.
108. Nicodemo M, Spreghini MR, Manco M, Wietrzykowska Sforza R, Morino G. Childhood Obesity and COVID-19 Lockdown: Remarks on Eating Habits of Patients Enrolled in a Food-Education Program. *Nutrients*. 26 de enero de 2021;13(2):383.
109. Castro LG, Tello-Guerrero G, Álvaro-Ordoñez L, Priego GPM de. Caries Dental y Microbiota. Revisión. *Rev Científica Odontológica [Internet]*. 5 de septiembre de 2017 [citado 22 de abril de 2023];5(1). Disponible en: <https://revistas.cientifica.edu.pe/index.php/odontologica/article/view/347>
110. Angarita Díaz MDP. Probióticos y su relación con el control de caries. Revisión de tema. *Rev Fac Odontol*. enero de 2016;28(1):179-202.

111. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ.* octubre de 2001;65(10):1028-37.
112. Hemadi AS, Huang R, Zhou Y, Zou J. Salivary proteins and microbiota as biomarkers for early childhood caries risk assessment. *Int J Oral Sci.* 10 de noviembre de 2017;9(11):e1.
113. Mitrakul K, Chanvitan S, Jeamset A, Vongsawan K. Quantitative analysis of *S. mutans*, *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* found in initial and mature plaques in Thai children with early childhood caries. *Eur Arch Paediatr Dent Off J Eur Acad Paediatr Dent.* agosto de 2017;18(4):251-61.
114. Neves BG, Stipp RN, Bezerra D da S, Guedes SF de F, Rodrigues LKA. Quantitative analysis of biofilm bacteria according to different stages of early childhood caries. *Arch Oral Biol.* diciembre de 2018;96:155-61.
115. Mato EG, Montaña-Barrientos BJ, Rivas-Mundiña B, Aneiros IV, López LS, Posse JL, et al. Anti-caries *Streptococcus* spp.: A potential preventive tool for special needs patients. *Spec Care Dent Off Publ Am Assoc Hosp Dent Acad Dent Handicap Am Soc Geriatr Dent.* 6 de septiembre de 2023;
116. AB Biotics, SA. Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Parallel Group Study to Evaluate the Clinical Efficacy of *Streptococcus Dentisani* CECT 7746 in Caries Risk Reduction [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2018 mar [citado 20 de abril de 2023]. Report No.: NCT03468842. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03468842>
117. Rosier BT, Marsh PD, Mira A. Resilience of the Oral Microbiota in Health: Mechanisms That Prevent Dysbiosis. *J Dent Res.* abril de 2018;97(4):371-80.
118. Ortiz-Flores R; Porta MC; Sasso C. *Streptococcus dentisani* y su rol probiótico en el desarrollo de caries dental. *Rev Fac Odontol.* 2019;13(2):31-8.
119. Torrez WB, Bravo ZSB. Inhibición de *Streptococcus mutans* aislado de cavidad oral de niños sin caries mediante sustancia antagónica producida por *Lactobacillus* spp. *Rev Odontopediatría Latinoam* [Internet]. 2020 [citado 22 de noviembre de 2023];10(1). Disponible en: <https://www.revistaodontopediatria.org/index.php/alop/article/view/181>
120. Applied Biosystems. Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System Experimentos de Curva Estándar [Internet]. 2010. Disponible en: [http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/cms\\_053208.pdf](http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/cms_053208.pdf)
121. Sarmiento RV, Barrionuevo FP, Huamán YS, Loyola MC. Prevalencia de caries de infancia temprana en niños menores de 6 años de edad, residentes en poblados urbano marginales de Lima Norte. *Rev Estomatológica Hered.* 2011;21(2):79-79.



122. Ferrer MD, López-López A, Nicolescu T, Salavert A, Méndez I, Cuñé J, et al. A pilot study to assess oral colonization and pH buffering by the probiotic *Streptococcus dentisani* under different dosing regimes. *Odontology*. abril de 2020;108(2):180-7.
123. Benítez-Páez A, Belda-Ferre P, Simón-Soro A, Mira A. Microbiota diversity and gene expression dynamics in human oral biofilms. *BMC Genomics*. 27 de abril de 2014;15:311.
124. Simón-Soro A, Guillen-Navarro M, Mira A. Metatranscriptomics reveals overall active bacterial composition in caries lesions. *J Oral Microbiol*. 2014;6:25443.
125. Acevedo AM, Machado C, Rivera LE, Wolff M, Kleinberg I. The inhibitory effect of an arginine bicarbonate/calcium carbonate CaviStat-containing dentifrice on the development of dental caries in Venezuelan school children. *J Clin Dent*. 2005;16(3):63-70.
126. Yin W, Hu DY, Li X, Fan X, Zhang YP, Pretty IA, et al. The anti-caries efficacy of a dentifrice containing 1.5% arginine and 1450 ppm fluoride as sodium monofluorophosphate assessed using Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF). *J Dent*. agosto de 2013;41 Suppl 2:S22-28.
127. Yin W, Hu DY, Fan X, Feng Y, Zhang YP, Cummins D, et al. A clinical investigation using quantitative light-induced fluorescence (QLF) of the anticaries efficacy of a dentifrice containing 1.5% arginine and 1450 ppm fluoride as sodium monofluorophosphate. *J Clin Dent*. 2013;24 Spec no A:A15-22.
128. Srisilapanan P, Korwanich N, Yin W, Chuensuwonkul C, Mateo LR, Zhang YP, et al. Comparison of the efficacy of a dentifrice containing 1.5% arginine and 1450 ppm fluoride to a dentifrice containing 1450 ppm fluoride alone in the management of early coronal caries as assessed using Quantitative Light-induced Fluorescence. *J Dent*. agosto de 2013;41 Suppl 2:S29-34.
129. Kraivaphan P, Amornchat C, Triratana T, Mateo LR, Ellwood R, Cummins D, et al. Two-year caries clinical study of the efficacy of novel dentifrices containing 1.5% arginine, an insoluble calcium compound and 1,450 ppm fluoride. *Caries Res*. 2013;47(6):582-90.
130. Li Y, Lee S, Stephens J, Mateo LR, Zhang YP, DeVizio W. Comparison of efficacy of an arginine-calcium carbonate-MFP toothpaste to a calcium carbonate-MFP toothpaste in controlling supragingival calculus formation and gingivitis: a 6-month clinical study. *Am J Dent*. febrero de 2012;25(1):21-5.
131. Wolff MS, Schenkel AB. The Anticaries Efficacy of a 1.5% Arginine and Fluoride Toothpaste. *Adv Dent Res*. febrero de 2018;29(1):93-7.


132. Liu YL, Nascimento M, Burne RA. Progress toward understanding the contribution of alkali generation in dental biofilms to inhibition of dental caries. *Int J Oral Sci.* septiembre de 2012;4(3):135-40.
133. Guo H, Li J, Yao H, Liu Y, Ji Y, Zhang J, et al. The dynamic communities of oral microbiome in neonates. *Front Microbiol.* 2022;13:1052525.
134. Dashper SG, Mitchell HL, Lê Cao KA, Carpenter L, Gussy MG, Calache H, et al. Temporal development of the oral microbiome and prediction of early childhood caries. *Sci Rep.* 24 de diciembre de 2019;9:19732.
135. Kuramitsu HK, He X, Lux R, Anderson MH, Shi W. Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR.* diciembre de 2007;71(4):653-70.
136. Gross EL, Leys EJ, Gasparovich SR, Firestone ND, Schwartzbaum JA, Janies DA, et al. Bacterial 16S sequence analysis of severe caries in young permanent teeth. *J Clin Microbiol.* noviembre de 2010;48(11):4121-8.
137. Gross EL, Beall CJ, Kutsch SR, Firestone ND, Leys EJ, Griffen AL. Beyond *Streptococcus mutans*: dental caries onset linked to multiple species by 16S rRNA community analysis. *PloS One.* 2012;7(10):e47722.
138. Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *J Clin Periodontol.* marzo de 2017;44 Suppl 18:S12-22.
139. Kressirer CA, Smith DJ, King WF, Dobeck JM, Starr JR, Tanner ACR. *Scardovia wiggsiae* and its potential role as a caries pathogen. *J Oral Biosci.* agosto de 2017;59(3):135-41.
140. Tanner ACR, Kressirer CA, Rothmiller S, Johansson I, Chalmers NI. The Caries Microbiome: Implications for Reversing Dysbiosis. *Adv Dent Res.* febrero de 2018;29(1):78-85.
141. Dame-Teixeira N, de Lima AKA, Do T, Stefani CM. Meta-Analysis Using NGS Data: The *Veillonella* Species in Dental Caries. *Front Oral Health.* 22 de octubre de 2021;2:770917.
142. Javaid MA, Ahmed AS, Durand R, Tran SD. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *J Oral Biol Craniofacial Res.* 2016;6(1):66-75.
143. Ling Z, Kong J, Jia P, Wei C, Wang Y, Pan Z, et al. Analysis of oral microbiota in children with dental caries by PCR-DGGE and barcoded pyrosequencing. *Microb Ecol.* octubre de 2010;60(3):677-90.
144. Yang F, Ning K, Chang X, Yuan X, Tu Q, Yuan T, et al. Saliva microbiota carry caries-specific functional gene signatures. *PloS One.* 2014;9(2):e76458.

145. Foxman B, Srinivasan U, Wen A, Zhang L, Marrs CF, Goldberg D, et al. Exploring the effect of dentition, dental decay and familiarity on oral health using metabolomics. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis.* marzo de 2014;22:201-7.
146. Li K, Wang J, Du N, Sun Y, Sun Q, Yin W, et al. Salivary microbiome and metabolome analysis of severe early childhood caries. *BMC Oral Health.* 19 de enero de 2023;23:30.
147. Zandona F, Soini HA, Novotny MV, Santiago E, Eckert GJ, Preisser JS, et al. A Potential Biofilm Metabolite Signature for Caries Activity - A Pilot Clinical Study. *Metabolomics Open Access.* marzo de 2015;5(1):140.
148. Comas I, Cancino-Muñoz I, Mariner-Llicer C, Goig GA, Ruiz-Hueso P, Francés-Cuesta C, et al. Uso de las tecnologías de secuenciación masiva para el diagnóstico y epidemiología de enfermedades infecciosas. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* 1 de enero de 2020;38:32-8.
149. Al-Hebshi NN, Baraniya D, Chen T, Hill J, Puri S, Tellez M, et al. Metagenome sequencing-based strain-level and functional characterization of supragingival microbiome associated with dental caries in children. *J Oral Microbiol.* 28 de diciembre de 2018;11(1):1557986.
150. Kang DD, Li F, Kirton E, Thomas A, Egan R, An H, et al. MetaBAT 2: an adaptive binning algorithm for robust and efficient genome reconstruction from metagenome assemblies. *PeerJ.* 2019;7:e7359.
151. Wood DE, Salzberg SL. Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome Biol.* 2014;15(3):R46.
152. Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol.* junio de 2011;12(6):1-18.
153. Corby PM, Lyons-Weiler J, Bretz WA, Hart TC, Aas JA, Boumenna T, et al. Microbial risk indicators of early childhood caries. *J Clin Microbiol.* noviembre de 2005;43(11):5753-9.
154. Kressirer CA, Chen T, Lake Harriman K, Frias-Lopez J, Dewhirst FE, Tavares MA, et al. Functional profiles of coronal and dentin caries in children. *J Oral Microbiol.* 16 de julio de 2018;10(1):1495976.
155. Grier A, Myers JA, O'Connor TG, Quivey RG, Gill SR, Kopycka-Kedzierawski DT. Oral Microbiota Composition Predicts Early Childhood Caries Onset. *J Dent Res.* junio de 2021;100(6):599-607.
156. Liu S, Chen M, Wang Y, Zhou X, Peng X, Ren B, et al. Effect of *Veillonella parvula* on the physiological activity of *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol.* enero de 2020;109:104578.

157. Teng F, Yang F, Huang S, Bo C, Xu ZZ, Amir A, et al. Prediction of Early Childhood Caries via Spatial-Temporal Variations of Oral Microbiota. *Cell Host Microbe*. 9 de septiembre de 2015;18(3):296-306.
158. Simón-Soro A, Belda-Ferre P, Cabrera-Rubio R, Alcaraz LD, Mira A. A tissue-dependent hypothesis of dental caries. *Caries Res*. 2013;47(6):591-600.
159. Simón-Soro A, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends Microbiol*. febrero de 2015;23(2):76-82.
160. Mira A, Simon-Soro A, Curtis MA. Role of microbial communities in the pathogenesis of periodontal diseases and caries. *J Clin Periodontol*. marzo de 2017;44 Suppl 18:S23-38.
161. Ben-Zaken H, Kraitman R, Copenhagen-Glazer S, Khalifa L, Alkalay-Oren S, Gelman D, et al. Isolation and Characterization of *Streptococcus mutans* Phage as a Possible Treatment Agent for Caries. *Viruses*. 2 de mayo de 2021;13(5):825.
162. Bhardwaj SB. Oral Streptococci Bacteriophages as a Potential Agent for Dental Caries Therapy. 2015;
163. Khalifa L, Shlezinger M, Beyth S, Hourri-Haddad Y, Copenhagen-Glazer S, Beyth N, et al. Phage therapy against *Enterococcus faecalis* in dental root canals. *J Oral Microbiol*. 16 de septiembre de 2016;8:10.3402/jom.v8.32157.
164. Ly M, Abeles SR, Boehm TK, Robles-Sikisaka R, Naidu M, Santiago-Rodriguez T, et al. Altered Oral Viral Ecology in Association with Periodontal Disease. *mBio*. 20 de mayo de 2014;5(3):e01133-14.
165. Jiang S, Gao X, Jin L, Lo ECM. Salivary Microbiome Diversity in Caries-Free and Caries-Affected Children. *Int J Mol Sci*. 25 de noviembre de 2016;17(12):1978.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1: Aprobación ética

	<b>UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA</b>	<b>Dirección Universitaria de INVESTIGACIÓN, CIENCIA Y TECNOLOGÍA (DUICT)</b>
---	---	---

CONSTANCIA 033 - 02 - 20

El Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el proyecto de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** por el Comité Institucional de Ética en Investigación, bajo la categoría de revisión **EXPEDITA**.

Título del Proyecto : "Factores nutricionales y microbiológicos orales asociados a la caries de infancia temprana en niños del distrito de Villa El Salvador, Lima, Perú"

Código de inscripción : 200714

Investigador principal : López Ramos Roxana Patricia

La aprobación incluyó los documentos finales descritos a continuación:



1. Protocolo de investigación, versión 0.1 de fecha 17 de noviembre del 2019
2. Consentimiento informado, versión 0.1 de fecha 17 de noviembre del 2019

La **APROBACIÓN** considera el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos Científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo investigador y la Confidencialidad de los datos, entre otros.

Cualquier enmienda, desviaciones, eventualidad deberá ser reportada de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada seis meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el 17 de diciembre del 2020.

Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 18 de diciembre del 2019.

  
  
**Dra. Piñe Samalvides Cuba**  
Presidenta  
Comité Institucional de Ética en Investigación

*Lsp*

Av. Honorio Delgado 430, SMP 15102  
Apartado postal 4314  
(511) 319-0000 anexo 201352  
duict@oficinas-upch.pe  
www.cayetano.edu.pe

## Anexo 2: Consentimiento informado

### CONSENTIMIENTO INFORMADO: PARTICIPACIÓN DE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN PARA LOS PADRES

**Título del estudio:** Factores nutricionales y microbiológicos orales asociados a la caries de infancia temprana en niños del distrito de Villa El Salvador, Lima, Perú

**Investigadora:** Roxana Patricia López Ramos

**Institución:** Universidad Peruana Cayetano Heredia.

#### Propósito del estudio:

Nosotros estamos invitando a su hijo(a) a participar en un estudio donde se evaluará los factores nutricionales y microbiológicos asociados a la caries de infancia temprana. El presente estudio es desarrollado por investigadores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

La caries dental es una enfermedad con alta prevalencia a nivel mundial y en Perú. Cuando se da en niños menores de 6 años se le conoce como Caries de Infancia Temprana. Esta enfermedad está relacionada a varios factores, entre ellos está el estado nutricional, el que podría aumentar el riesgo de caries dental y por otro lado están los microorganismos orales, que recientes estudios han descubierto la presencia de una bacteria en la boca, llamada *Streptococcus dentisani*, el cual sería protector contra la caries dental. Es por eso que se realizará una evaluación tanto del estado nutricional, de la cavidad bucal y recolección muestra de saliva y placa dental (masa que se adhiere a los dientes) de su hijo que nos permita determinar la asociación de estas condiciones con la caries de infancia temprana.

#### Procedimientos:

- Si usted está de acuerdo que su hijo(a) participe y su hijo(a) desea participar en el estudio se le realizará lo siguiente:
- Se tomará la estatura y el peso de su hijo(a), a través de un tallímetro y una balanza, esto tomará un tiempo de 2 minutos.
- Se tomará una muestra de saliva a su hijo(a), el cual será depositada en un tubo de 5ml y será almacenada hasta su posible evaluación.
- Se tomará una muestra de placa bacteriana (masa que se adhiere a los dientes) a su hijo(a) a través de un raspado superficial por medio de una cureta estéril, el cual será depositada en un tubo de 5ml y será almacenada hasta su posible evaluación.
- Se aplicará en sus dientes de su hijo(a) un revelador de placa (no es tóxico, ni dañino), que luego será removido con el cepillado dental.
- Se revisará la boca de su hijo(a), esto será con un espejo bucal estéril, previamente se le limpiará los dientes con una gasa estéril.
- A Usted se le brindará un cuestionario referente a condiciones socioeconómicas, antecedentes post natales, hábitos de higiene bucal y dieta cariogénica de su hijo(a), esto tomará un tiempo en total de 10 minutos.

#### Riesgos:

- La revisión de los dientes no le ocasionará molestia alguna a su hijo(a).
- La toma de muestra de saliva no le ocasionará molestia alguna a su hijo(a).
- La toma de muestra de placa bacteriana (masa adherida a los dientes) no ocasionará incomodidad a su hijo se tomará con cureta estéril, solo será superficialmente y de manera rápida (2 minutos aprox. como máximo).

Versión 1

Fecha 17 noviembre 2019



**CONSENTIMIENTO INFORMADO: PARTICIPACIÓN DE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

**Título del estudio: Factores nutricionales y microbiológicos orales asociados a la caries de infancia temprana en niños del distrito de Villa El Salvador, Lima, Perú**

**Investigadora: Roxana Patricia López Ramos**

**Institución: Universidad Peruana Cayetano Heredia**

Su hijo(a) será beneficiado a través de un examen clínico de los dientes. A usted se le comunicará de forma personal y confidencial los hallazgos del examen clínico de su boca de su hijo(a). Esta evaluación no tendrá un gasto ni costo para usted. Esto será solventado por el estudio. En caso sea necesario su hijo(a) será referido a un centro de salud más cercano.

Usted no tendrá que pagar nada por la participación de su hijo(a) en el estudio, solo se obsequiará a su hijo(a) un kit de higiene dental (cepillo dental y pasta dental) para incentivar la higiene bucal y a usted se le brindará charlas de higiene bucal.

Se guardará la información brindada por medio de códigos. En el caso de ser publicado los hallazgos, estos datos se emplearán en códigos para así evitar la identificación del niño.

Nosotros deseamos mantener las muestras de su hijo(a) conservándolas por un periodo de 10 años para futuros estudios. Serán usadas para evaluar algunos problemas en la cavidad bucal y no serán utilizadas para estudios genéticos; solamente serán identificadas por medio de códigos. Su hijo(a) podrá continuar el estudio, en caso no desee que las muestras de su hijo(a) sean almacenadas ni utilizadas posteriormente. Asimismo, los resultados serán almacenados y utilizados posteriormente para estudios que beneficiaran a un mejor entendimiento de la enfermedad y se contará con la aprobación del Comité Institucional de Ética en Investigación- Universidad Peruana Cayetano Heredia, cada vez que se requiera el empleo de las muestras. No serán utilizadas para estudios genéticos.

Doy mi autorización para almacenar las muestras de saliva y placa dental de mi hijo(a): Si ( ) NO( )

Usted podrá retirar a su hijo(a) en cualquier momento del estudio, no ocasionará ningún problema por ello. Si tiene alguna duda sobre el estudio, podrá comunicarse con la Dra. Roxana Patricia López Ramos al celular [REDACTED].

Si tuviera preguntas relacionadas a aspectos éticos de nuestro estudio, Usted podrá comunicarse con la Dra. Frine Samalvides Cuba, quien es presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación- Universidad Peruana Cayetano Heredia, al 01-3190000 - Anexo 201355 o al correo electrónico: duict.cieh@oficinas-upch.pe.

Se le entregará una copia del consentimiento informado que ha firmado.

Yo....., acepto de manera voluntaria que mi hijo....., participe en el estudio, y estoy de acuerdo con lo referido anteriormente y con que mi hijo pueda retirarse en cualquier momento del estudio, si él lo desee.

\_\_\_\_\_  
Nombres y Apellidos  
Participante

\_\_\_\_\_  
Fecha y Hora

\_\_\_\_\_  
Nombres y Apellidos  
Investigador

\_\_\_\_\_  
Fecha y Hora



**APROBADO**  
18/12/19

Versión 1

Fecha 17 noviembre 2019

SIDISI 200714

### Anexo 3: Instrumento(s) de recolección de los datos.

*"Factores nutricionales y microbiológicos orales asociados a la caries de infancia temprana en niños del distrito de Villa el Salvador Lima, Perú"*

***"Factores nutricionales y microbiológicos orales asociados a la caries de infancia temprana en niños del distrito de Villa el Salvador Lima, Perú"***

#### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

Código de Ficha:

#### PARTE I INFORMACION DEL NIÑO:

1	Nombres y Apellidos	
2	Código del Niño	

3	Fecha de Nacimiento	--/--/----	4	Sexo	[1] Masculino [2] Femenino
---	---------------------	------------	---	------	-------------------------------

#### INFORMACION DEL CUIDADOR:

5	Fecha de Nacimiento	
6	Sexo	[1] Masculino [2] Femenino
7	Número de hijos vivos	
8	Nivel de educación	[1] Primaria [2] Secundaria [3] Técnica [4] Universitaria
9	Ingreso económico familiar mensual	.....soles

#### ESTADO NUTRICIONAL DEL NIÑO:

10.	Peso	_____ Kg	11	Talla	_____ Cm.
-----	------	----------	----	-------	-----------



*"Factores nutricionales y microbiológicas orales asociadas a la caries de infancia temprana en niños del distrito de Villa el Salvador Lima, Perú*

**FACTORES POST NATALES**

12	Tipo de parto	[1] vaginal [2] Cesárea	
13	Tipo de lactancia	[1] Materna [2] Mixta [3] Artificial [4] Ninguna	
14	¿Cuánto tiempo recibió lactancia materna el niño?	[1] _____ días [2] _____ meses [3] _____ años	
15	¿En los primeros dos años, su hijo se enfermó?	[1] Si [1] No	
16	Aproximadamente, ¿Cuántas veces se ha enfermado su niño?		
17	¿Tomo antibióticos el niño durante los dos primeros años?	[1] Si [2] No [3] No sabe/ No recuerda	



**HABITOS DE HIGIENE DEL NIÑO**

18	¿Qué hace usted para que la boca de su hijo no se enferme?	[1] Alimentación [2] Higiene ► p19 [3] Nada [4] Otro.....► p19	
19	¿Con qué frecuencia, usted hace/supervisa la higiene de la boca de su hijo?	[1] Una vez al día [2] Dos veces al día [3] Tres veces al día [4] No sabe/ No recuerda [5] Otro .....	
20	¿Con qué le realiza la higiene de la boca a su hijo?	[1] Con agua solamente [2] Con gasa sola [3] Con gasa más agua [4] Con cepillo [5] Con nada [6] Otro.....	
21	Si es CON NADA ¿Por qué?	[1] No sabe realizarle la higiene [2] No tengo tiempo [3] No puedo realizarle la higiene de su boca [4] Me olvido [5] Otro.....	
22	¿Los dientes de su hijo son cepillados?	[1] Si [2] No	
23	Si es NO ¿Por qué?	[1] No sabía que tenía que cepillarle los dientes [2] No tengo tiempo [3] No se deja cepillarse su hijo [4] Me olvido [5] Otro .....	

*"Factores nutricionales y microbiológicos orales asociados a la caries de infancia temprana en niños del distrito de Villa el Salvador Lima, Perú"*

24	¿A qué edad comenzó el cepillado de los dientes del niño?	[1] Antes de 6 meses de edad	
		[2] entre los 7 a 12 meses de edad	
		[3] entre los 13 a 18 meses de edad	
		[4] entre los 18 a 24 meses de edad	
		[5] Nunca se ha cepillado los dientes	
		[6] No sabe/no recuerda	
25	¿Con qué le cepilla los dientes a su hijo?	[1] Solo cepillo	
		[2] Cepillo más agua	
		[3] Cepillo más pasta dental	
		[4] Otro .....	
26	¿Cuántas veces al día el niño se cepilla los dientes?	[1] una vez al día	
		[2] Dos veces al día	
		[3] Tres veces al día	
		[4] No se cepilla los dientes	
		[5] Otro .....	
27	¿Usted supervisa el cepillado de los dientes del niño?	[1] Si	
		[2] No	
28	¿Usa pasta dental el niño?	[1] Si	
		[2] No ▶ p25	
29	¿Qué marca de pasta dental usa? ¿Cuál es la concentración de Fluoruro de sodio	[1] Colgate [ ppm]	
		[2] Kolinas [ ppm]	
		[3] <del>Clava Up</del> [ ppm]	
		[4] <del>Dento</del> [ ppm]	
		[5] <del>Sensodina</del> [ ppm]	
		[6] Oral B [ ppm]	
		[7] <del>Crest</del> [ ppm]	
		[8] <del>Aquafresh</del> [ ppm]	
		[9] <del>Signal</del> [ ppm]	
		[10] <del>Vitis</del> [ ppm]	
		[11] Otra.....	
30	¿Usa hilo dental para la limpieza de sus dientes?	[1] Si	
		[2] No	

**ATENCION ODONTOLOGICA**

31	¿Su hijo ha sido llevado a una consulta odontológica?	[1] Si	
		[2] No ▶ p22	
32	¿A qué edad acudió por primera vez al odontólogo su hijo?	[1] Antes de 6 meses de edad	
		[2] entre los 7 a 12 meses de edad	
		[3] entre los 13 a 18 meses de edad	
		[4] entre los 18 a 24 meses de edad	
		[5] Nunca acudió	
		[6] No sabe/no recuerda	
		[7] Otro .....	

*"Factores nutricionales y microbiológicos orales asociados a la caries de infancia temprana en niños del distrito de Villa el Salvador Lima, Perú"*

33	¿Por qué lo llevo por primera vez al odontólogo a su hijo?	[1] Dolor	
		[2] Revisión de dental	
		[3] Curación	
		[4] Limpieza	
		[5] Aplicación de flúor	
		[6] Otro.....	
34	¿Cuándo fue la última vez que ha visitado al odontólogo su hijo?	[1] Hace menos de 6 meses	
		[2] hace menos de 12 meses	
		[3] hace menos de 18 meses	
		[4] hace menos de 24 meses	
		[5] Nunca ha ido	
		[6] Otro.....	

**DIETA CARIOGENICA**

35	¿Su hijo come algo antes del almuerzo?	[1] Si	
		[2] No	
		[3] No sabe	
36	Si es Sí ¿Qué come? Describir	[1] Galletas	
		[2] Chocolates	
		[3] Caramelos	
		[4] Queques	
		[5] Papitas fritas	
		[6] Mazamorras	
		[7] Frutas	
		[8] Yogurt	
		[9] Otro.....	
37	¿Su hijo come algo antes de la Cena?	[1] Si	
		[2] No	
38	Si es Sí ¿Qué come? Describir	[1] Galletas	
		[2] Chocolates	
		[3] Caramelos	
		[4] Queques	
		[5] Papitas fritas	
		[6] Mazamorras	
		[7] Frutas	
		[8] Yogurt	
		[9] Otro.....	
39	¿Su hijo come algo después de la Cena?	[1] Si	
		[2] No	
40	Si es Sí ¿Qué come? Describir	[1] Galletas	
		[2] Chocolates	
		[3] Caramelos	
		[4] Queques	
		[5] Papitas fritas	
		[6] Mazamorras	
		[7] Frutas	
		[8] Yogurt	
		[9] Otro.....	

*"Factores nutricionales y microbiológicos orales asociados a la caries de infancia temprana en niños del distrito de Villa el Salvador Lima, Perú"*

41	¿Cuántas veces al día su hijo como golosinas? (galletas, chocolates, caramelos, queques, papas fritas, mazamorras, Etc.)	[1] Una vez al día	
		[2] Dos veces al día	
		[3] Tres veces al día	
		[4] Mas de tres veces	
		[5] No sabe	
		[6] No consume golosinas	
42	¿Su hijo toma los líquidos con azúcar? (Ej: te, manzanilla, <del>ajis</del> , <del>caja</del> , cocoa, jugos naturales, <del>caja</del> , emoliente, quinua, Etc.)	[1] Si	
		[2] No	
43	Si, es Si: ¿Cuántas cucharadas de azúcar le agrega a la bebida?		
44	¿Su hijo toma leche con azúcar?	[1] Si	
		[2] No	
45	Si, es Si: ¿Cuántas cucharadas de azúcar le agrega a la leche?		
46	¿Qué producto usa para endulzar los alimentos de su hijo?	[1] Panela	
		[2] Azúcar	
		[3] Miel de abeja	
		[4] Edulcorante	
		[5] Otro	
		[6] No endulza los alimentos de su hijo	
47	¿Cuántas veces al día, su hijo toma bebidas artificiales? Ejemplo: gaseosas, jugos artificiales, frugos, tampico, Etc.	[1] una vez al día	
		[2] Dos veces al día	
		[3] Tres veces al día	
		[4] No sabe	
		[5] No consume productos artificiales	
48	¿Cuántas veces al día su hijo come comidas con grasas? Ejemplo: hamburguesas, hot dogs, ¿papas fritas?	[1] una vez al día	
		[2] Dos veces al día	
		[3] Tres veces al día	
		[4] No sabe	
		[5] No consume frituras	
		[6] No consume comidas con grasas	

*"Factores nutricionales y microbiológicos orales asociados a la caries de infancia temprana en niños del distrito de Villa el Salvador Lima, Perú"*

CÓDIGO DEL NIÑO: \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_

**II. PARTE: EVALUACIÓN CLÍNICA ORAL:**

**1. ÍNDICE DE HIGIENE ORAL:** índice de placa bacteriana visible- Silness y Loe:

Diente	55				51				61				75				84				85				85											
Código	D	V	D	P	M	D	V	P	M	D	V	P	M	D	V	P	M	D	V	P	M	D	V	P	M	D	V	P	M	D	V	P				

2. NÚMERO DE SUPERFICIES EXAMINADAS:

3. NÚMERO DE VALORES "1" ENCONTRADOS:

4. PORCENTAJE DE PLACA:  
 Número de casillas con valor "1" x 100/ Número de superficies examinadas:

5. HIGIENE ORAL:

Buena 0-15%	<input type="text"/>
Regular 16-30%	<input type="text"/>
Deficiente: 31-100%	<input type="text"/>

6. OBSERVACIÓN: \_\_\_\_\_

**7. EVALUACIÓN DE CARIES DE INFANCIA TEMPRANA:** según Índice ICDAS- Valores

	55	54	53	52	51	61	62	63	64	65	
M											M
O											O
D											D
V											V
P											P
M											M
O											O
D											D
V											V
L											L
	85	84	83	82	81	71	72	73	74	75	

Condición de la superficie	Condición de caries
0 No restaurado, ni sellado	0 Sano
1 Sellante, parcial	1 Mancha blanca / marrón en esmalte seco.
2 Sellante, completo	2 Mancha blanca / marrón en esmalte húmedo.
3 Restauración color diente	3 Micro cavidad en esmalte seco < 0.5mm.
4 Restauración en amalgama	4 Sombra oscura de dentina vista a través del esmalte húmedo c/s micro cavidad.
5 Corona de acero inoxidable	5 Exposición de dentina en cavidad > 0,5mm hasta la mitad de la superficie dental en seco.
6 Corona o carilla en porcelana, oro o metal- porcelana	6 Exposición de dentina en cavidad mayor a la mitad de la superficie dental.
7 Restauración perdida o fracturada	Observación: _____
8 Restauración temporal	
97 Diente ausente por caries	
98 Diente ausente por otras razones	
99 Diente no erupcionado	
06 Corona dental destruida por caries	

**8. CONDICIÓN DE LA SUPERFICIE-ICDAS**

Código	Cantd. Superficies	Cantd. Pzas.
0		
1		
2		
3		
4		
5		
6		

9. OBSERVACIÓN: \_\_\_\_\_

**10. CONDICION DE LA SUPERIFICIE-ICDAS**

Código	Cantd. Superficies	Cantd. Pzas.
0		
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
97		
98		
99		
06		

11. OBSERVACIÓN: \_\_\_\_\_

**12. FRECUENCIA DE CIT:**

Presencia de CIT ≥1	
Ausencia de CIT (0)	

**13. EVALUACIÓN DE CARIES DE INFANCIA TEMPRANA: Según Índice PUFA- Valores**

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

Código	Consecuencia Clínica
P	Compromiso pulpar visible
U	Ulceración causada por fragmentos remanentes cortantes
F	Fístula
A	Absceso

14. OBSERVACIÓN: \_\_\_\_\_

15. VALOR PROMEDIO DE PUFA

$$\frac{p+u+f+a}{20} = \boxed{\phantom{00}}$$

16. FRECUENCIA DE PUFA:

Frecuencia PUFA	
Presencia	
Ausencia	

**III. EVALUACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS**

17. N° DE CRIOVIALES SALIVA:

18. pH SALIVAL:

19. CLASIFICACION DE pH SALIVAL <7  
≥ 7

20. CAPACIDAD AMORTIGUADORA DE LA SALIVA

21. CLASIFICACION DE CAPACIDAD AMORTIGUADORA:  
Muy bajo: <3.5  
Bajo: 3.50 – 4,24  
Normal: 4.25-4.75  
Alta: > 4.75

22. N° DE CRIOVIALES SALIVA:

23. OBSERVACIÓN: .....

### Anexo 4: Resultados del juicio de expertos y prueba V de Aiken

Preguntas	Experto 1 Mg. Esp. Estadística Daniel Blanco Victorio	Experto 2 Mg. Esp. Odontopediatría Olga Velásquez Vergara	Experto 3 Esp. Odontopediatría Gloria Baldeón Arellano	Experto 4 Mg. Educación. Odontóloga Susan Gutiérrez Rodríguez	Experto 5 Mg. Esp. Odontopediatría Nieves López Luján	Experto 6 PhD. Esp. Odontopediatría Evelyn Álvarez Vidigal
Pregunta 1	0.75	0.75	1	1	1	0.75
Pregunta 2	1	0.75	1	1	1	0.75
Pregunta 3	1	0.75	1	1	1	0.5
Pregunta 4	1	0.75	1	1	1	0.5
Pregunta 5	0.75	0.75	1	1	1	0.5
Pregunta 6	0.75	0.75	1	1	1	0.5
Pregunta 7	0.75	0.75	1	1	1	0.5
Pregunta 8	0.75	0.75	1	1	1	0.75
Pregunta 9	0.75	0.75	1	1	0.75	0.75
Pregunta 10	0.75	0.5	1	1	0.75	0.75
Pregunta 11	0.75	0.75	1	1	1	0.75
Pregunta 12	0.75	0.75	1	1	1	0.75
Pregunta 13	0.75	0.75	1	1	1	0.75
Pregunta 14	0.75	1	1	1	0.75	0.75
Pregunta 15	0.75	1	1	1	0.75	0.75
Pregunta 16	0.75	1	1	1	1	0.75
Pregunta 17	0.75	1	1	1	1	0.75
Pregunta 18	0.75	1	1	1	1	0.75
Pregunta 19	0.75	1	1	1	1	0.75
Pregunta 20	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 21	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 22	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 23	1	1	1	1	1	0.5
Pregunta 24	0.75	1	1	1	1	0.5
Pregunta 25	0.75	1	1	1	1	1
Pregunta 26	1	1	1	1	1	1
Pregunta 27	0.75	1	1	1	1	0.75
Pregunta 28	0.75	1	1	1	1	0.75
Pregunta 29	1	1	1	1	1	1
Pregunta 30	1	1	1	1	1	1
Pregunta 31	1	1	1	1	1	1
Pregunta 32	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 33	1	0.75	1	0.75	1	0.75
Pregunta 34	0.75	0.75	1	1	1	0.75
Pregunta 35	1	0.75	1	1	1	0.75
Pregunta 36	1	0.75	1	1	1	0.5
Pregunta 37	1	1	1	1	1	0.5
Pregunta 38	0.75	1	1	1	1	0.5
Pregunta 39	0.75	1	1	1	1	0.5



Pregunta 40	0.75	1	1	1	1	0.5
Pregunta 41	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 42	1	1	1	1	0.75	1
Pregunta 43	1	1	1	1	0.75	1
Pregunta 44	1	1	1	1	1	1
Pregunta 45	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 46	1	1	1	1	1	1
Pregunta 47	1	1	1	1	0.75	0.75
Pregunta 48	1	1	1	1	0.75	0.75
Pregunta 49	1	1	1	1	1	1
Pregunta 50	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 51	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 52	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 53	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 54	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 55	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 56	1	1	1	1	1	0.5
Pregunta 57	0.75	1	1	1	1	0.5
Pregunta 58	0.75	1	1	1	1	1
Pregunta 59	1	1	1	1	1	1
Pregunta 60	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 61	1	1	1	1	1	0.75
Pregunta 62	1	1	1	1	1	1
Pregunta 63	1	1	1	1	1	1
Pregunta 64	1	1	1	1	1	1
Pregunta 65	1	1	1	1	1	0.75
V de Aiken	0.90	0.93	1.00	1.00	0.97	0.75
Total, V de Aiken	0.93					

Escala de calificación

1: Muy poco aceptable 2: Poco aceptable 3: Regular  
4: Aceptable 5: Muy aceptable

## Anexo 5: Índice de Probabilidad de Pobreza (PPI).

17Feb2020

### Parte D. Evaluación de PPI 2016 (Progress out of Poverty Index)

PPI: Miembros del hogar	Valor	Respuestas	Puntaje
Instrucciones: Marque con un círculo la respuesta correcta de cada pregunta, y registre el puntaje en la última columna.			
D-2		Siete o más _____ (cuántos)	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>
		Seis	
		Cinco	
		Cuatro	
		Tres	
		Dos	
		Uno	
D-3		Sin nivel, o educación inicial	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>
		Primaria incompleta	
		Primaria completa	
		Secundaria incompleta	
		Secundaria completa,	
		Superior no universitaria incompleta	
		Superior no universitaria completa	
		Superior universitaria incompleta	
		Superior universitaria completa	
		Estudios de posgrado	
		No hay jefa/esposa del hogar	
D-4		Sin nivel, o educación inicial	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>
		Primaria incompleta	
		Primaria completa	
		Secundaria incompleta	
		Secundaria completa,	
		Superior no universitaria incompleta	
		Superior no universitaria completa	
		Superior universitaria incompleta	
		Superior universitaria completa	
		Estudios de posgrado	
		No hay jefa/esposa del hogar	

Código del participante:

1

PPI: Miembros del hogar		Valor	Respuestas	Puntaje
<i>Instrucciones: Marque con un círculo la respuesta correcta de cada pregunta, y registre el puntaje en la última columna.</i>				
D-5	¿En los últimos 15 días, usted o algún miembro de este hogar obtuvieron, consumieron, compraron, o le regalaron jugos envasados?	00	No	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
		01	Si	
D-6	¿En los últimos 3 meses, usted o algún miembro de este hogar obtuvieron, consiguieron, compraron o le regalaron prendas de vestir para adultos?	00	No	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
		01	Si	
D-7	¿En los últimos 3 meses, usted o algún miembro de este hogar obtuvieron, consiguieron, compraron o le regalaron calzado para adultos (incluye zapatillas)?	00	No	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
		01	Si	

PPI: Pertenencias del hogar		Valor	Respuestas	Puntaje
<i>Instrucciones: Marque con un círculo la respuesta correcta de cada pregunta, y registre el puntaje en la última columna.</i>				
D-8	¿Su hogar tiene plancha?		No	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
			Si	
D-9	¿El hogar tiene una refrigeradora/congeladora?		No	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
			Si	
D-10	¿El hogar tiene una licuadora?		No	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
			Si	
			Si	

Código del participante:

Anexo 6: Registro fotográfico de medidas antropométricas, toma de muestras biológicas y evaluación bucal.



## Anexo 7. Cálculo de Potencia del estudio 1.

Como se trató de un estudio proveniente de una cohorte de nacimiento existente, se consideró adecuado hacer el cálculo de la potencia con un tamaño de muestra de 204 niños y teniendo en consideración la siguiente información: la prevalencia de caries en niños con desnutrición crónica fue 36.0%, con obesidad 3.0% y con sobrepeso de 5.0% y con estado nutricional normal fue 55.8%(79); considerando un nivel de significancia de 5%, el poder estadístico hallado fue > 80%, Los cálculos se realizaron usando el programa estadístico STATA versión 17.

\* Desnutrición Crónica:

P1 =La prevalencia de caries dental en niños con desnutrición crónica fue 36.0%, P2=Prevalencia de caries dental en niños con estado nutricional normal de 56%, se utilizó el siguiente comando en el programa estadístico STATA versión 17.

power twoproportions 0.56 0.36, n (204)

Resultado: Potencia estadística= 82%

```
. power twoproportions 0.56 0.36, n (204)

Estimated power for a two-sample proportions test
Pearson's chi-squared test
H0: p2 = p1 versus Ha: p2 != p1

Study parameters:
      alpha =   0.0500
         N =    204
  N per group =   102
      delta =  -0.2000 (difference)
         p1 =   0.5600
         p2 =   0.3600

Estimated power:
      power =   0.8224
```

Salida de corrida en el programa estadístico Stata versión 17 para determinar el cálculo de potencia con respecto a la variable desnutrición crónica.

\*Obesidad:

P1 =La prevalencia de caries dental en niños con desnutrición crónica fue 3.0%, P2=Prevalencia de caries dental en niños con estado nutricional normal de 56%, se utilizó el siguiente comando en el programa estadístico STATA versión 17.

```
power twoproportions 0.56 0.03, n (204)
```

Resultado: Potencia estadística= 100%

```
. power twoproportions 0.56 0.03, n (204)

Estimated power for a two-sample proportions test
Pearson's chi-squared test
H0: p2 = p1 versus Ha: p2 != p1

Study parameters:

      alpha =    0.0500
      N =      204
  N per group =    102
      delta =   -0.5300 (difference)
      p1 =     0.5600
      p2 =     0.0300

Estimated power:

      power =    1.0000
```

Salida de corrida en el programa estadístico Stata versión 17 para determinar el calculo de potencia con respecto a la variable obesidad.

\*Sobrepeso:

P1 =La prevalencia de caries dental en niños con desnutrición crónica fue 5.0%, P2=Prevalencia de caries dental en niños con estado nutricional normal de 56%, se utilizó el siguiente comando en el programa estadístico STATA versión 17.

```
power twoproportions 0.56 0.05, n (204)
```

Resultado: Potencia estadística= 100%

```
. power twoproportions 0.56 0.05, n (204)

Estimated power for a two-sample proportions test
Pearson's chi-squared test
H0: p2 = p1 versus Ha: p2 != p1

Study parameters:

      alpha =    0.0500
        N =     204
  N per group =    102
      delta =   -0.5100 (difference)
        p1 =    0.5600
        p2 =    0.0500

Estimated power:

      power =    1.0000
```

Salida de corrida en el programa estadístico Stata versión 17 para determinar el cálculo de potencia con respecto a la variable sobrepeso.

Anexo 8. Análisis de modificación de efecto entre las variables estudiadas y el COVID-19.

Se realizó un análisis de homogeneidad de Mantel- Haenszel para evaluar si la pandemia fue posiblemente modificadora de efecto entre las variables caries de infancia temprana y estado nutricional a la edad de la evaluación odontológica, donde se halló que la pandemia no fue modificadora de efecto (p=0.649).

Análisis Mantel-Haenszel del IMC para la edad a la evaluación dental asociados a CIT debido a la Pandemia COVID-19 (n = 204).

<b>Variable</b>	<b>n =204</b>	<b>OR</b>	<b>IC 95%</b>	<b>p*</b>
<b>Pandemia COVID 19</b>				0.730
Febrero-Marzo 2020	121	0.70	0.43 - 1.15	
Agosto 2021	83	0.63	0.44 - 0.91	

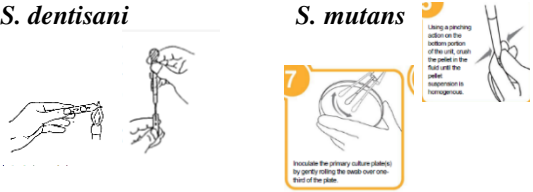
OR: Odds ratio; p\*: Prueba de homogeneidad de Mantel-Haenszel



Anexo 9: Flujoograma de procesamiento de las cepas de referencia *S. dentisani* y *S. mutans*.

**1. Reactivación de cepas: *S. mutans* y *S. dentisani***  
1 hora

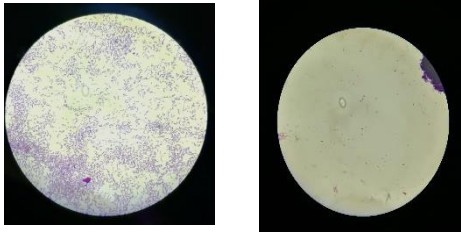
*S. dentisani* *S. mutans*



**Medio:** Caldo y Agar BHI  
**Siembra:** Por agotamiento en 2 placas por cada cepa. Y en 2 tubos por cada cepa.  
**Incubación:** Aerofilia *S. dentisani* durante 24 h a 37°C y el *S. mutans* durante 48 h a 37°C en agitación  
\*\* Previo control de calidad de las placas y tubos.

**2. Observación de Cepas en Microscopio**  
(45min)

- Tinción Gram (15min)
- Observación de Microscopio 1000x (30 min)




*S. dentisani* *S. mutans*

3. Elaboración de curva estándar, previamente cálculo de las unidades formadoras de colonias (UFC) para cada cepa de referencia.

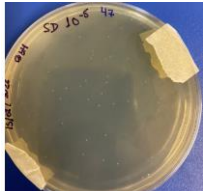
**a. Preparación de medios de cultivo y sembrado para cálculo de UFC (30 min)**

- Con un asa en punta tomar una colonia e inocular en 10 ml de medio caldo BHI (2 TUBO para c/cepa)
- **Incubación:** Aerofilia *S. dentisani* durante 24 h a 37°C y el *S. mutans* durante 48 h a 37°C en agitación.



**d. Cálculo de UFC, Lectura e Interpretación**  
1 hora

- Realizar la lectura e interpretación (rango normal 30-300 colonias), transcurrido el tiempo de incubación pertinente, contar todas las colonias crecidas en las placas.



**Resultados:**  
*S. dentisani*:  $4.5 \times 10^7$  UFC/mL  
*S. mutans*:  $7.63 \times 10^7$  UFC/mL  
- Conservación de diluciones en glicerol al 50%.

**c. Preparación de las diluciones seriadas para cálculo de UFC (2horas)**

6. Realizar diluciones seriadas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ )


Cantidad transferida (ml)	1	2	3	4	etc
ml de s.s. estéril	9	9	9	9	etc
Factor de dilución	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	etc

**30 min**

- Se seleccionó diluciones: Elegir  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-10}$
- Inocular por triplicado (15 placas para c/cepa, total 30 placas) 0.1 ml de la dilución correspondiente en el agar BHI y extender sobre la superficie de la placa usando una espátula de Drisgalski estéril. (**1h 30min**)
- Incubación: 24 horas a 37°C

**b. Medición de DO por medio del Espectrofotómetro**  
1 hora

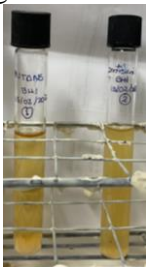
- Medir la densidad óptica: *S. dentisani* y *S. mutans*. Con longitud de onda de 595nm y con absorbancias de 0.08 a 0.1.



Valores obtenidos:  
*S. dentisani*: 0.08 / *S. mutans*: 0.1

**e. Extracción de ADN de cepas originales**

- Se realiza la extracción de ADN del caldo de la original.



Caldo BHI – SD/SM

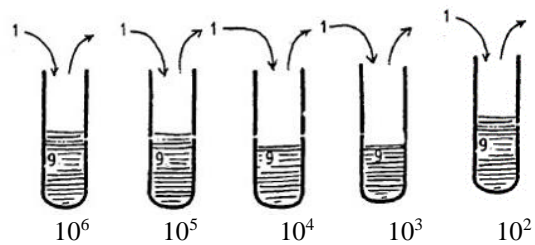
- 1.0ml del caldo con *S. dentisani*/*S. mutans* se centrifuga y se descarta el sobrenadante y quedando el pellet.
- Se procede a realizar extracción ADN según el protocolo del Kit Master Pure Gram + EPICENTRE.

**f. Preparación de diluciones de ADN**

- Del ADN extraído se realiza diluciones seriadas 1:10.

*S. dentisani*:  $4.5 \times 10^7$  UFC/mL

*S. mutans*:  $7.63 \times 10^7$  UFC/mL



## Anexo 10. Cálculo de Potencia del estudio 2.

Como se trató de un estudio proveniente de una cohorte de nacimiento existente, se consideró adecuado hacer el cálculo de la potencia con un tamaño de muestra de 204 niños y teniendo en consideración la siguiente información: la media de concentración de *S. dentisani*(ng/μl) en placa dental en niños con CIT 0.35 y sin CIT de 0.45; considerando un nivel de significancia de 5%, el poder estadístico hallado fue de 96% (86), Los cálculos se realizaron usando el programa estadístico STATA versión 17.

```
. power twomeans 0.45 0.35, nratio(2) n(250) sd(0.2)

Estimated power for a two-sample means test
t test assuming sd1 = sd2 = sd
Ho: m2 = m1 versus Ha: m2 != m1

Study parameters:

      alpha =      0.0500
         N =         250
      N2/N1 =      2.0000
      delta =     -0.1000
         m1 =      0.4500
         m2 =      0.3500
         sd =      0.2000

Actual sample sizes:

         N =         249
        N1 =          83
        N2 =         166

Estimated power:

      power =      0.9595
```

Salida de corrida en el programa estadístico Stata versión 17 para determinar el cálculo de potencia de acuerdo con la variable *Streptococcus dentisani*.