



Artículo original/Original Article

## Relación entre la mancha negra extrínseca y la caries dental en una población de Argentina

### Relationship between extrinsic black stain and dental caries in a population of Argentina

Gandolfo Mirtha R <sup>1</sup>, Arbelo Darío C. <sup>2</sup>, Spadiliero de Lutri Mirta M<sup>3</sup>, Zarate Ana M<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Córdoba, Facultad Odontología. Cátedra de Odontopediatría.

<sup>2</sup> Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Médicas. Escuela de Tecnología Médica. Cátedra de Microbiología.

<sup>3</sup> Universidad Nacional de Córdoba, Facultad Odontología. Cátedra de Operatoria I.

<sup>4</sup> Universidad Nacional de Córdoba, Facultad Odontología. Cátedra de Microbiología e Inmunología.

\*Correspondencia a/Corresponding to:

Dra. Ana María Zarate

Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Odontología,

Departamento de Biología Bucal

Correo electrónico/E-mail: ana.maria.zarate@unc.edu.ar

Rev Fac Odont (UNC). 2022; 32 (2): 16-26

doi: 10.25014/revfacodont271.2020.32.2.16

revistas.unc.edu.ar/index.php/RevFacOdonto

Received 11 July 2022; Accepted 20 June 2022

#### Abstract

Many published studies express that the presence of extrinsic black stain on the enamel of tooth surfaces in children and adolescents is associated with less dental caries (CD) activity, this being valid for both primary and permanent dentition. The objective of this research was to carry out a multifactorial approach to know the relationship between the presence of extrinsic black stain and the presence of caries, in a population of the city of Córdoba, Argentina. Methods. A case-control study (5: 1) was carried out in patients of both sexes from 3 to 15 years of age, between the years 2016-2019, who were attended by spontaneous request to the Chair "A" of Pediatric Dentistry, of the Faculty of Dentistry, from the National University of Córdoba (n = 184). All patients underwent a Clinical History. Stimulated saliva was extracted for calcium and phosphate determination and dental biofilm was taken to measure CFU / mL of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp.

Results. The prevalence of extrinsic black spot was 1.78%. No significant association was found between sex, age and types of dentition between the groups studied. In the problem group, a lower amount of CFU / mL of *S. mutans* and *Lactobacillus* spp was found, a higher concentration of calcium and phosphate and a lower caries index of the primary dentition. Patients with extrinsic black spot had a much lower rate. Conclusions. The extrinsic black spot could be an element of protection against caries, the recommendation for patients who present them would be to remove them from the visible areas and keep them in the rest of the dental elements.

**Keywords:** dental caries; extrinsic black stain; risk factors

#### Resumen

Muchos estudios publicados, expresan que la presencia de mancha negra extrínseca sobre el esmalte de las superficies dentarias en niños y adolescentes, está asociada con una menor actividad de caries dental, siendo esto válido tanto para la dentición

primaria como para la permanente. El objetivo de este trabajo fue realizar un abordaje multifactorial para conocer la relación entre la presencia de la mancha negra extrínseca y la presencia de caries, en una población de la ciudad de Córdoba, Argentina. Métodos. Se realizó un estudio caso-control (5:1), en pacientes de ambos sexos de 3 a 15 años de edad, entre los años 2016-2019, que concurren por demanda espontánea a la Cátedra "A" de Odontopediatría, de la Facultad de Odontología, de la Universidad Nacional de Córdoba (n= 184). A todos los pacientes se les realizó Historia Clínica, se les extrajo saliva estimulada para determinación de calcio y fosfato y se les tomó biopelícula dental para medir UFC/mL de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp. Resultados. La prevalencia encontrada de mancha negra extrínseca fue del 1, 78%. No se encontró asociación significativa entre sexo, edad y tipos de dentición entre los grupos estudiados. En el grupo problema se encontró menor cantidad de UFC/mL de *S. mutans* y *Lactobacillus* spp, mayor concentración de calcio y fosfato y menor en índice de caries de dentición primaria. Los pacientes con mancha negra extrínseca presentaron un índice mucho menor. Conclusiones. La mancha negra extrínseca podría ser un elemento de protección frente a la caries, la recomendación para los pacientes que las presenten sería retirarlas de las zonas visibles y mantenerlas en el resto de los elementos dentarios.

**Palabras claves:** caries dental; mancha negra extrínseca; factor de riesgo.

## Introducción

Sobre las superficies dentarias de niños y adolescentes, en algunas ocasiones durante el examen clínico bucal, pueden evidenciarse pigmentaciones a las que se denomina *manchas negras extrínsecas* (MNE) <sup>1</sup>.

La MNE actualmente es definida como una sustancia oscura exógena, que en la clínica se puede observar en las caras lisas de los elementos dentarios como puntos, como una línea pigmentada de coalescencia incompleta, como una línea fina completa o como una mancha; por lo general su coloración va del marrón oscuro al negro. Su localización es característica, apareciendo firmemente adherida o pegada al borde gingival del elemento dentario y en algunos casos va más allá del tercio cervical de la corona, sin extenderse a la zona interproximal <sup>2</sup>. La MNE se presenta particularmente en la dentición primaria, aunque los dientes permanentes también pueden estar afectados. Estas pigmentaciones aparecen temprano sobre la superficie del esmalte dental, a la edad de 2 o 3 años <sup>3</sup>. El tipo particular de pigmento que constituye las MNE ha sido considerado una forma especial de biopelícula dental que difiere de otros tipos, porque contiene sal insoluble de hierro y un alto contenido de calcio y fosfato <sup>4</sup>. En relación a las especies bacterianas que podrían cumplir un rol en la formación de la MNE, hipótesis iniciales sugirieron que estarían involucradas bacterias cromogénicas tales como *Porphyromonas gingivalis* <sup>5</sup>. Sin embargo estudios posteriores, realizados utilizando la técnica de PCR han descartado a esta especie bacteriana y describieron una reducida diversidad bacteriana en la MNE comparada con biopelícula estándar, con presencia de géneros como

*Actinomyces*, *Cardiobacterium*, *Haemophilus*, *Corynebacterium*, *Tannerella* y *Treponema*, sumado a bajos niveles de *Campylobacter*, sugiriendo así una disbiosis como posible causa o factor que contribuya a la formación de la MNE <sup>6</sup>. En un estudio reciente de Ortiz López et al 2018, se demostró la presencia de *Tannerella forsythia* en el 83,9% de los pacientes con MNE estudiados <sup>7</sup>.

Estudios realizados en diferentes poblaciones, muestran una prevalencia de la MNE que va entre el 1 y el 20% <sup>8</sup>.

La mayoría de los estudios publicados, expresan que la presencia de MNE sobre el esmalte de las superficies dentarias en niños y adolescentes, está asociada con una menor actividad de caries dental (CD), siendo esto válido tanto para la dentición primaria como para la permanente <sup>9</sup>. En estos trabajos se relaciona la MNE con la presencia o ausencia de CD. La etiología de la CD es multifactorial, incluyendo primeramente a tres factores esenciales: el huésped, los microorganismos y la dieta, a los que se añade el tiempo y la edad <sup>10</sup>. La evaluación del riesgo de CD involucra un análisis de la probabilidad de que haya un cambio en el número (incidencia), severidad, y / o actividad de las lesiones cariosas <sup>11</sup>. Los factores de riesgo de CD no actúan aisladamente, sino que lo hacen en conjunto interrelacionados, por lo que con frecuencia fortalecen en gran medida su nocivo efecto para la salud. Considerar que la sola presencia de MNE reduce el riesgo de presentar CD, constituye un abordaje simplista y unifactorial que no tiene en cuenta el concepto multifactorial de esta enfermedad. El objetivo de este trabajo fue realizar un abordaje multifactorial para conocer la relación entre la presencia de MNE y la presencia de caries, en

una población de la ciudad de Córdoba, Argentina.

## Métodos

Se realizó un estudio caso-control (5:1), en pacientes de ambos sexos de 3 a 15 años de edad, entre los años 2016-2019, que concurren por demanda espontánea a la Cátedra "A" de Odontopediatría, de la Facultad de Odontología, de la Universidad Nacional de Córdoba (n= 184). Esta muestra, incluyó a 28 pacientes con MNE y 156 pacientes sin MNE, excluyéndose a los que estuvieran bajo tratamiento farmacológico de cualquier tipo y/o que hubieran tomado antibióticos por 10 días anteriores a la toma de muestra. El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba (Nº: 1378). Las investigaciones presentadas cumplen con todas las declaraciones éticas para los tipos de estudios, ya sea en humanos o en animales, según la Declaración de Helsinki. Cada paciente menor de edad y el responsable mayor que acompañó al niño/na, firmaron consentimiento y asentimiento informado respectivamente. A todos los pacientes se les realizó Historia Clínica. Además, se les extrajo saliva estimulada y biopelícula dental. La confección de la historia clínica y la toma de muestras fue realizada por un solo operador odontólogo.

## Historia Clínica

Se completó una historia clínica en la cual se registraron datos demográficos; frecuencia diaria de cepillado dental (una vez/ dos o más veces), frecuencia diaria de consumo de hidratos de carbono (una vez / más de una vez), según criterio modificado de Bordoni et al <sup>12</sup>; alimentos consumidos (pegajosos/no pegajosos) según Bordoni et al <sup>12</sup> e índice de Higiene Oral (considerando Índice de Greene y Vermillon simplificado bueno/ deficiente) <sup>13</sup>. Se registraron las caries de dientes primarios y/o permanentes para calcular el Índice de Caries (CPO para dentición permanente y ceo para dentición primaria), que es el que se utilizaba en ese momento en la cátedra donde se atendió a los pacientes.

Para registro de MNE, se utilizaron planillas elaboradas a tal fin y anexadas a la historia clínica, en las que se registró la frecuencia

(número de veces que aparece la MNE en cada elemento dentario) y localización (en que elemento/s dentario/s aparece la MNE; también se registró extensión de la MNE, según criterio de Gasparetto et al 2003 <sup>14</sup>, quien considera diferentes grados, según la extensión de la superficie del diente afectado por MNE:

- Grado 1: corresponde a la presencia de puntos pigmentados o finas líneas con coalescencia incompleta paralelas al margen gingival.
- Grado 2: indica la presencia líneas pigmentadas de continua, las cuales son fáciles de observar, y se limitan a la mitad del tercio cervical de la superficie del diente.
- Grado 3: indica la presencia de una mancha extendida más allá de la mitad del tercio cervical de la superficie dentaria.

## Saliva estimulada

La saliva estimulada se tomó durante 5 minutos, en tubos de polietileno calibrados (Corning™ Tubos, Thermo Fisher Scientific, USA), considerando cantidad de saliva en mL/min; además se midió pH utilizando tiras indicadoras de pH (MColorpHast™ Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). Posteriormente las muestras de saliva se centrifugaron a 10.000 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante se utilizó para ensayos bioquímicos de determinación de concentración de calcio y fosfato por método colorimétrico, utilizando en ambos casos kit de medición correspondiente (Kit de Wienerlab, Rosario – Argentina). Al considerar las concentraciones de calcio y fosfato se tuvieron en cuenta los criterios de Mina et al <sup>15</sup>.

## Biopelícula dental

La biopelícula dental fue extraída de la cara vestibular del segundo molar primario o primer molar permanente, respectivamente según la dentición presente en la cavidad bucal, en la zona supragingival, utilizando cucharillas KMD (diámetro 2 mm). El material fue colocado en medio de transporte Cari Blair (Laboratorio Britania, S. A, Buenos Aires, Argentina) y cultivado para estudio de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp. Se consideró la presencia de estos microorganismos por su relación con la CD; no se midió otro microorganismo pues no se realizaron en este trabajo estudios de

composición microbiana de MNE. Para el cultivo de *Streptococcus mutans*: se utilizó medio de cultivo Agar Mitis Salivarius (DIFCO, DQ Microbiología Laboratorios S. A. DE C. V., México) con el agregado de 0,281 mg/mL de Bacitracina (ICN Biomedicals, 71% de actividad) y se incubó a 37°C en microaerofilia durante 48 hs, en estufa Pasteur. Para el cultivo de *Lactobacillus* spp: se utilizó medio de cultivo Agar Rogosa (Merck, KGaA, Darmstadt, Alemania) en cápsulas de Petri las cuales luego fueron colocadas en jarras de anaerobiosis (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francia) que contenían sobres que consumían oxígeno (GENbox- bioMérieux Marcy-l'Étoile, Francia), un indicador de anaerobiosis de Azul de Metileno (AnaerIndicator-bioMerieux). Tanto para *Streptococcus mutans* como para *Lactobacillus* spp se calcularon las UFC/mL:- Las variables estudiadas en este trabajo se muestran en la Tabla 1.

### Análisis estadísticos

Las variables cualitativas se describieron mediante sus frecuencias absolutas y relativas en porcentajes; las variables cuantitativas se describieron por su media/mediana, desvío estándar. La asociación entre las variables se realizó mediante la Prueba de Fisher y las diferencias entre los parámetros de centralización se realizaron mediante la Prueba de Wilcoxon. Se realizó una regresión logística para valorar la fuerza de asociación del riesgo cariogénico con respecto a la presencia o no de MNE. Para todas las pruebas se fijó un p valor < 0,05 para significación estadística. Para explorar las asociaciones entre las variables cualitativas se realizó un Análisis de Correspondencia Múltiple. El análisis de los datos se realizó con el programa Infostat 2018.

### Resultados

En el grupo problema el 50% de los pacientes fue de sexo femenino y el 50% masculino; sus edades estuvieron comprendidas entre los 3 y 14 años; la dentición primaria, y la mixta fueron las prevalentes en este grupo. En el grupo control el 47% de los pacientes fue de sexo femenino y el 53% de sexo masculino: las edades estuvieron comprendidas entre los 3 y 15 años; la dentición primaria y la mixta fueron las prevalentes en este grupo de estudio. No se

encontró asociación significativa ( $p=0,2181$ ) entre sexo, edad y tipos de dentición entre los grupos estudiados.

La prevalencia encontrada de MNE fue del 1,78%.

Los valores obtenidos al analizar y comparar las variables frecuencia diaria de cepillado dental, frecuencia diaria de consumo de hidratos de carbono, alimentos consumidos, índice de Higiene Oral, UFC/mL de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp, concentraciones de calcio y fosfato en saliva, pH y flujo saliva se observan en la Tabla 1.

Entre ambos grupos de estudio hubo una notoria diferencia significativa con respecto al índice de caries dental de la dentición primaria. Los pacientes con MNE presentaron un índice mucho menor (Tabla 2).

En cuanto a la extensión de la MNE se observaron grado I y II, tanto en la dentición primaria como en permanente (Fig. 1).



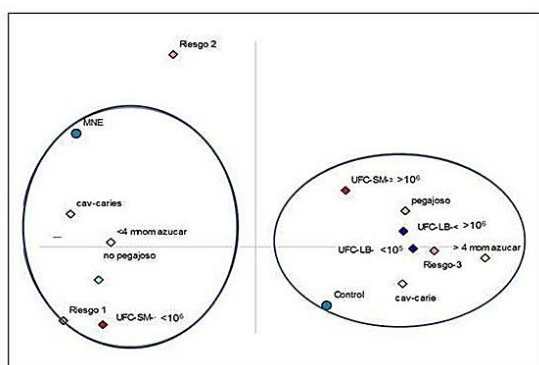
**Figura 1:** Izq. Arriba. Paciente de 13 años, de sexo masculino, con Grado I de MNE, en dentición permanente; Der. Arriba. Paciente de 6 años, de sexo masculino, con Grado I de MNE, en dentición mixta. Izq. Abajo. Paciente de 5 años, de sexo masculino, con grado II de MNE, en dentición primaria. Der. Abajo. Paciente de 8 años, de sexo, con Grado II de MNE, en dentición mixta

La localización de la MNE, en la dentición primaria, fue en las caras vestibulares, superiores e inferiores, en las caras palatinas y en las linguales; en la dentición permanente en las caras palatinas de los elementos 12, 11, 21 y 22 y en las caras linguales de los elementos 42, 41, 31 y 32. En cuanto a la frecuencia de aparición de la MNE en la dentición primaria se presentó con mayor frecuencia el grado I en las superficies vestibulares de los elementos 53 (FA: 6; FR: 19%) y 63 (FA: 7; FR: 17%); el grado II se presentó con mayor frecuencia en las caras vestibulares de los elementos 64

(FA:6; FR14%); 54 (FA: 7; FR 16%), 65 FA: 7; FR 16%), 55 (FA:8; FR 19%). En la dentición permanente el grado I presentó mayor frecuencia en las caras linguales de los elementos 41 (FA. 4; FR 40%) y 31(FA. 4; FR 40%); el grado II se presentó con mayor frecuencia en las caras linguales de los elementos 42, 41, 31 y 32 (en todos FA: 3; FR 25%).

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

Por otra parte, el riesgo criogénico alto (riesgo 3) se observa relacionado a la ausencia de MNE, con el consumo de alimentos del tipo pegajosos, al consumo de azúcar más de 4 veces al día y con valores  $\geq 10^6$  de UFC/ml *S. mutans* (Fig. 2).



**Figura 2.** Análisis de Correspondencia Múltiple. Inercia del primer eje 47,65% y del segundo eje 15,20% (Inercia total de los dos primeros ejes: 62,85%). *Riesgo 1*: Bajo Riesgo Cariogénico, *Riesgo 2*: Moderado Riesgo Cariogénico; *Riesgo 3*: Alto Riesgo Cariogénico (Según criterio modificado de Bordoni et al<sup>7</sup>). Ref.: *cav-carie*: cariescavitada; *UFC/ml*: unidad formadora de colonias de *Lactobacillus* spp.; *MNE*: mancha negra extrínseca; *UFC/ml*: unidad formadora de colonias de *Streptococcus mutans*.

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

## Discusión

La CD es una de las enfermedades más prevalentes en la cavidad bucal siendo de origen multifactorial. Se conoce que una de las principales necesidades de salud no satisfechas en los niños es la CD. Es un problema de salud pública en los países menos desarrollados, por lo que una de las principales estrategias de los investigadores en el tema y de los planificadores en salud ha sido encontrar estrategias para prevenirla y controlarla.

La MNE es un tipo de coloración presente en los elementos dentarios de pacientes con dentición primaria, mixta y permanente, que se asocia a problemas clínicos y estéticos<sup>16</sup>; por lo que numerosos trabajos han relacionado la CD con la MNE<sup>3</sup>.

Considerando el concepto multifactorial de la CD, el propósito de este estudio fue estudiar variables de la dieta, los microorganismos y las características de individuales de los pacientes con presencia/ausencia de MNE, para ver si es posible considerar a la MNE como un factor protector frente a la CD.

En este trabajo no se encontró asociación significativa relacionada a sexo y/o tipo de dentición entre ambos grupos de estudio, en coincidencia con otros autores consultados<sup>18</sup>. Estudios realizados demuestran que la MNE es una formación que no depende de sexo o tipo de dentición sino más bien de la diversidad microbiana (variable que no se consideró en este estudio) que la constituye; según estos estudios la diversidad microbiana es reducida en pacientes con MNE<sup>18</sup>.

La presencia/ausencia de MNE relacionada a las variables frecuencia de consumo de carbohidratos y características de los alimentos consumidos, no presentó diferencias significativas entre los grupos de estudio, lo que coincide con el estudio realizado en niños de Oviedo, España<sup>19</sup>. Tampoco se encontró asociación significativa entre índice de higiene bucal y la presencia/ausencia de MNE, al comparar el grupo problema y el grupo control. Hay mucha bibliografía que demuestra una clara asociación entre el desarrollo de la CD y la frecuencia de consumo de alimentos azucarados y las características de los alimentos consumidos. La frecuencia de ingesta de alimentos cariogénicos sobre todo entre comidas, tiene una fuerte relación con el riesgo de CD, pues favorece cambios en el pH y alarga el tiempo de aclaramiento bucal incrementando

la probabilidad de desmineralización del esmalte. El riesgo de padecer CD es mayor si los azúcares se consumen con alta frecuencia y están en una forma que se retiene en la superficie dentaria por períodos prolongados<sup>20</sup>. Se encontró diferencia en el índice de caries de dentición primaria (componente c); el grupo de MNE presentó valores significativamente menores, en coincidencia con un trabajo realizado en nuestro país<sup>21</sup> y con numerosos trabajos en diferentes lugares del mundo<sup>19,22</sup>. Esto estaría relacionado con que en el grupo problema se encontraron valores mayores en los niveles de calcio y fosfato en saliva y menor cantidad de UFC/mL de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp en biopelícula bacteriana. La MNE apareció más frecuentemente en las caras vestibulares, superiores e inferiores, en las caras palatinas y linguales de todos los elementos dentarios primarios, mientras que en la dentición permanente las mismas se observaron en las caras palatinas de los elementos 12, 11, 21 y 22 y cara lingual en los elementos 42, 41, 31 y 32; en estos elementos es donde menor cantidad de CD se encontró.

La mayor concentración de calcio y fosfato en la saliva de los pacientes con MNE, se relacionaría con la reducción de la capacidad del esmalte para disolverse<sup>23</sup>, pues la saliva, es un importante protector de los tejidos de la cavidad bucal y entre sus múltiples funciones se encuentra la remineralización de los tejidos duros del diente que se produce por el suministro externo de calcio y fosfato, promoviendo así la deposición de iones en los espacios de los cristales en el esmalte desmineralizado<sup>24</sup>. La menor cantidad de UFC/mL de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp, en biopelícula dental podría favorecer la menor cantidad de CD pues es bien conocido en la comunidad científica, que las proporciones de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp es elevada en la biopelícula de sujetos con caries siendo el *Streptococcus mutans* el agente más importante asociado a la misma<sup>25,26</sup>.

Al relacionar todas las variables estudiadas se encontró que la MNE está asociada un riesgo cariogénico bajo en dentición primaria. Es ampliamente conocido que existe un nexo entre los antecedentes de CD en las diferentes denticiones, por lo que la CD en la dentición primaria estaría asociada con la presencia de caries en la dentición permanente.

La MNE se relaciona con un bajo riesgo de CD por lo que se debería considerar un factor protector de la CD. Un factor protector es aquel que puede compensar los factores biológicos predisponentes de CD pudiendo ser biológicos o terapéuticos y contribuyen a mantener al paciente en un estado de balance o equilibrio y favorecer el proceso de remineralización<sup>27</sup>. Considerando entonces a la MNE como factor protector la recomendación para los pacientes que las presenten sería retirarlas de las zonas visibles, para disminuir así el problema estético que conlleva la presencia de las mismas, y mantenerlas en el resto de los elementos dentarios.

Existe creciente evidencia acerca de qué medidas individuales, profesionales y comunitarias, son efectivas en la prevención y control de la CD por lo tanto la MNE debería tenerse en cuenta no solo como un factor protector individual, sino también al momento de diseñar protocolos de salud preventivos de CD.

#### Conflicto de intereses/Conflict of interest

Todos los autores declaran que no existen conflictos potenciales de interés con respecto a la autoría y / o publicación de este artículo.

All authors declare no potential conflicts of interest with respect to the authorship and/or publication of this article.

#### Referencias

1. Zyla T, Kawala B, Antoszezewska-smith J, Kawala M. Black stain and dental caries: a review of the literature. *Biomed. Res. Int.* 2015; IDA 469392:1-6. DOI: 10.1155/2015/469392.
2. Li, Y., Zou, CG., Fu, Y. *et al.* Oral microbial community typing of caries and pigment in primary dentition. *BMC Genomics* 17, 558 (2016). DOI:10.1186/s12864-016-2891-z.
3. Sim CP, Dashper SG, Reynolds EC. Oral microbial biofilm models and their application to the testing of anticariogenic agents. *J Dent.* 2016 Jul;50:1-11. DOI: 10.1016/j.jdent.2016.04.010.
4. Garan A, Akyüz S, Oztürk LK, Yarat A. Salivary parameters and caries indices in children with black tooth stains. *J Clin Pediatr Dent.* 2012 Spring;36(3):285-8. DOI: 10.17796/jcpd.36.3.21466m672t723713.
5. Loureiro de Moura A, Macedo M, Penido S, Penido C. Black extrinsic stain – case report. *Fac. Odontol Lins.* 2013; 23 (1):59-64. DOI:

- <http://dx.doi.org/10.15600/2238-1236/fo1.v23n1p59-64>
6. Heinrich-Weltzien R, Bartsch B, Eick S. Dental caries and microbiota in children with black stain and non-discoloured dental plaque. *Caries Res.* 2014; 48(2):118-25. doi: 10.1159/000353469.
  7. Ortiz-López, C.S., Veses, V., Garcia-Bautista, J.A. *et al.* Risk factors for the presence of dental black plaque. *Sci Rep.* 2018; 8, 16752 <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35240-7>
  8. Ronay V, Attin T. Black Stain- A review. *Oral Health Prev. Dent.* 2011; 9(1), 37–45. PMID: 21594205
  9. Rezende VS, Fonseca-Silva T, Drumond CL, Ramos-Jorge ML, Paiva SM, Vieira-Andrade RG. Do Patients with Extrinsic Black Tooth Stains Have a Lower Dental Caries Experience? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Caries Res.* 2019;53(6):617-627. DOI: 10.1159/000500476.
  10. González Sanz A, González Nieto B, González Nieto E. Salud dental: relación entre la caries dental y el consumo de alimentos. *Nutr. Hosp.* [Internet]. 2013 Jul [citado 2021 Abr 17] ; 28( Suppl 4 ): 64-71. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112013001000008&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013001000008&lng=es)
  11. Sun HB, Zhang W, Zhou XB. Risk Factors associated with Early Childhood Caries. *Chin J Dent Res.* 2017; 20(2):97-104. DOI: 10.3290/j.cjdr.a38274.
  12. Bordoni N, Escobar A, Castillo Mercado R. *Odontología Pediátrica. La salud bucal del niño y el adolescente en el mundo actual.* 1ª ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2010.
  13. Greene JC, Vermillion JR. The simplified oral hygiene index. *J Am Dent Assoc.* 1964 Jan;68:7-13. doi: 10.14219/jada.archive.1964.0034.
  14. Gasparetto A. Prevalence of Black Tooth Stains and Dental Caries in Brazilian School children. *Braz Dent J.* 2003; 14(3): 157-161. DOI: 10.1590 / s0103-64402003000300003.
  15. Mina S, Riga C, Azcurra AI, Brunotto M. Oral ecosystem alterations in celiac children: a follow up study. *Ed Elviesier* 2012; 57 (2): 154-60. DOI: [10.1016/j.archoralbio.2011.08.017](https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.08.017)
  16. Chen, L., Zhang, Q., Wang, Y. *et al.* Comparing dental plaque microbiome diversity of extrinsic black stain in the primary dentition using Illumina MiSeq sequencing technique. *BMC Oral Health* **19**, 269 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12903-019-0960-9>. DOI: [10.1186/s12903-019-0960-9](https://doi.org/10.1186/s12903-019-0960-9).
  17. van Loveren C. Sugar Restriction for Caries Prevention: Amount and Frequency. Which Is More Important? *Caries Res.* 2019; 53(2):168-175. DOI: 10.1159/000489571.
  18. Li Y, Zhang Q, Zhang F, Liu R, Liu H, Chen F. Analysis of the Microbiota of Black Stain in the Primary Dentition. *PLoS One.* 2015 ;10(9): e0137030. DOI: 10.1371/journal.pone.0137030.
  19. Garcia Martin JM, Gonzalez Garcia M, Seoane Leston J, Llorente Pendas S, Diaz Martin JJ, Garcia-Pola MJ. Prevalence of black stain and associated risk factors in preschool Spanish children. *Pediatr Int.* 2013; 55(3):355-9. doi: 10.1111/ped.12066. .
  20. Tinanoff N. Association of diet with dental caries in preschool children. *Dent Clin North Am.* 2005 Oct; 49(4):725-37. DOI: 10.1016/j.cden.2005.05.011.
  21. Bircher, María. Mancha negra y caries en dentición decidua y mixta. *e-Universitas UNR Journal* [Internet], 2008 [cited 01 de marzo de 2021]; 1(1). Available from: <http://www.e-universitas.edu.ar/journal/index.php/journal/article/view/18>.
  22. Chumpitaz Durand R, Córdova Sotomayor D. Prevalence and risk factors for extrinsic discoloration in deciduous dentition of peruvian schoolchildren. *Rev Fac Odontol Univ Antioq* [Internet]. 2018 June [cited 2021 Apr 18] ; 29( 2 ) : e01. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-246X2018000100001&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-246X2018000100001&lng=en). <https://doi.org/10.17533/udea.rfo.v29n2a1>
  23. Jiang S, Gao X, Jin L, Lo EC. Salivary Microbiome Diversity in Caries-Free and Caries-Affected Children. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(12):1978. DOI: 10.3390/ijms17121978.
  24. Menon LU, Varma RB, Kumaran P, Xavier AM, Govinda BS, Kumar JS. Efficacy of a Calcium Sucrose Phosphate Based Toothpaste in Elevating the Level of Calcium, Phosphate Ions in Saliva and Reducing Plaque: A Clinical Trial. *Contemp Clin Dent.* 2018; 9(2):151-157. DOI: 10.4103/ccd.ccd\_562\_17.
  25. Gamboa F, Plazas L, García DA, Aristizabal F, Sarralde AL, Lamby CP, Abba M. Presence and count of *S. mutans* in children with dental caries: before, during and after a process of oral health education. *Acta Odontol Latinoam.* [Internet]. 2018 [citado el 01 de marzo de 2021] ;31(3):156-163. 30829371. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30829371/>.
  26. Ademe D, Admassu D, Balakrishnan S. Analysis of salivary level *Lactobacillus* spp. and associated factors as determinants of dental caries amongst primary school children in Harar town, eastern Ethiopia. *BMC Pediatr.* 2020 Jan 16;20(1):18. doi: 10.1186/s12887-020-1921-9.
  27. Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries-risk assessment. *Int Dent J.* 1999 Feb;49(1):15-26. doi: 10.1111/j.1875-595x.1999.tb00503.x



**Publisher's Note:** This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Tabla 1: Variables de estudio en pacientes con MNE y pacientes control. Ref. MNE: mancha negra extrínseca; FA: frecuencia absoluta; IHOS: Índice de Higiene oral; UFC/mL: unidades formadoras de colonias; DE: desvío estándar; p- valor <0,05 indica significación estadística.

Variable		Pacientes control (n=156) FA (%)	Pacientes con MNE (n=28) FA (%)	p valor
Frecuencia de cepillado dental diario	Dos o más veces	44 (28)	8 (28)	0,9684
	Una vez	112 (72)	20 (72)	
Frecuencia de consumo de hidratos de carbono	Menos de cuatro momentos de consumo	48 (31)	8 (28)	0,8160
	Más de cuatro momentos de consumo	108 (69)	20 (72)	
Características de los alimentos ingeridos	No adhesivos	56 (36)	8 (28)	0,4536
	Adhesivos	100(64)	20 (72)	
IHOS	Higiene buena	79 (51)	13 (46)	0,7207
	Higiene deficiente	77(49)	15 (54)	
UFC/mL de <i>S. mutans</i>	$\geq 10^6$	80 (51)	7 (25)	0,0005
	$\leq 10^6$	76 (49)	21 (75)	
UFC/ML de <i>Lactobacillus</i> spp	$\geq 10^5$	123 (79)	8 (30)	0,0003
	$\leq 10^5$	33 (21)	20 (70)	
Concentración de pH salival	$\geq 7$ (neutro)	156 (100)	28 (100)	0,1254
	$\leq 6$ (ácido)	0	0	
Volumen de flujo salival	$\geq 1$ -2mL/min (normal)	33 (21)	22 (77)	0,0001
	$\leq 1$ -2mL/min (bajo)	123 (79)	6 (23)	
Concentración de calcio en saliva estimulada (mgr/dl)		<b>Media/DE</b>	<b>Media/DE</b>	<b>p valor</b>
		1,99/1,09	3,28/0,56	0,0001



Concentración de fósforo en saliva estimulada(mgr/dl)	0,65/0,22	9,01/7,26	0,0001
---	-----------	-----------	--------

**Tabla 2:** Índice de Caries Dental. **ceod:** (diente cariado, extracción indicada, obturado) para dentición primaria; **CPOD** (diente cariado, perdido y obturado) para dentición permanente. *Ref.ceod:* (diente cariado, extracción indicada, obturado) para dentición primaria; *CPOD* (diente cariado, perdido y obturado) para dentición permanente. *DE:* desvío estándar. *p-* valor <0,05 indica significación estadística.

Variables	Pacientes Control			Pacientes con MNE			p-valor Wilcoxon
	Media	DE	Mediana	Media	DE	Mediana	
c	4,95	3,39	5	0,57	1,17	0	0,0001
e	0,76	1,67	0	0,11	0,42	0	0,0315
o	0,23	1,07	0	0	0	0	0,1224
C	0,3	0,93	0	0,04	0,19	0	0,2315
P	0	0	0	0	0	0	0,2315
O	0	0	0	0,07	0,38	0	0,1040

**Tabla 3:** Regresión logística Ref.: EE: error estándar; OR: odd ratio; LI: límite inferior; LS: límite superior. P valor <0,05 indica significación estadística.

Parámetros	Estimado	E.E.	O.R.	Intervalo Confianza 95%		p-valor
				LI	LS	
Constante	0,49	0,51	1,64	0,60	4,45	0,3354
riesgo_2,00	-0,27	0,85	0,77	0,14	4,06	0,7547
riesgo_3,00	2,22	1,25	9,25	0,80	106,87	0,0747