

ÍNDICE DE MATERIAS

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
NDICE DE MATERIAS.....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
RESUMEN.....	1
1. MARCO TEÓRICO.....	2
1.1 Definición, prevalencia y severidad de caries dental.....	2
1.2 Colonización en la cavidad bucal y caries dental.....	5
1.3 Streptococcus orales.....	8
1.4 Factores de virulencia de <i>Streptococcus mutans</i>	9
1.5 Cuantificación de bacterias mediante técnicas moleculares.....	11
1.6 Definición de Objeto de Estudio.....	12
2. HIPÓTESIS.....	13
3. OBJETIVO GENERAL.....	13
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
5.1 Tipo de Estudio y Materiales.....	14
5.1.1 Reactivos.....	14
5.1.2 Medios de cultivo.....	15
5.1.3 Cepas bacterianas.....	15
5.1.4 Partidores.....	15
5.1.5 Equipos.....	15
5.2 Muestra.....	17
5.2.1 Obtención de muestras y procedimientos.....	18
5.2.2 Informe de caries.....	19
5.3 Extracción DNA genómico de saliva y placa dental.....	20
5.4 Extracción DNA genómico de <i>Streptococcus mutans</i> UA159....	20
5.4.1 Extracción DNA genómico de <i>S. sanguinis</i>	21

5.4.2 Extracción DNA genómico de <i>E. coli</i>	21
5.5 Separación de DNA mediante electroforesis.....	21
5.6 Comprobación de partidores en PCR tiempo final.....	22
5.7 Cuantificación DNA total de saliva y placa dental.....	23
5.8 Cuantificación de <i>Streptococcus mutans</i> mediante qPCR.....	23
6. RESULTADOS.....	24
6.1 Estandarización de técnica para detección de <i>Streptococcus mutans</i>	24
6.2 Cuantificación de <i>Streptococcus mutans</i> en muestras de saliva y placa dental mediante la técnica qPCR.....	29
7. DISCUSIÓN.....	34
8. CONCLUSIONES.....	36
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
10. ANEXOS.....	41
Anexo N°1: Certificado Comité de Bioseguridad.....	41
Anexo N°2: Consentimiento Informado.....	42
Anexo N°3: Ficha clínica.....	46
Anexo N°4: Informe de caries.....	50
Anexo N°5: Acta de Aprobación de Protocolo de Investigación.....	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1: Prevalencia de la caries en Chile.....	3
Figura N°2: Daños por caries en dentición temporal.....	3
Figura N°3: Daños por caries en dentición definitiva.....	3
Figura N°4: Proporción de mayores de 15 años que declara que su salud bucal afecta la calidad de vida siempre o casi siempre.....	4
Figura N°5: Colonias de <i>Streptococcus mutans</i> crecidas en agar TYCSB....	8
Figura N°6: Modelo de adhesión bacteriana mediado por Gtfs.....	10
Figura N°7: Electroforesis DNA genómico de <i>S. mutans</i> UA159.....	24
Figura N°8: Electroforesis producto PCR TF <i>16Sr RNA</i> en gel de agarosa..	25
Figura N°9: Electroforesis de producto PCR TF partidores <i>Smut</i>	26
Figura N°10: Curva de melting <i>S. mutans</i> UA159.....	28
Figura N°11: Gráfico de concentración por ciclo de amplificación de las diluciones seriadas de <i>S. mutans</i> UA159.....	28
Figura N°12: Electroforesis en gel de agarosa al 1% de DNA genómico muestras de saliva y placa dental.....	29
Figura N°13: Curva de melting. Amplificación de DNA muestras de saliva y placa dental con los partidores para el gen <i>gtfB</i> de <i>S. mutans</i>	31
Figura N°14: Gráfico de concentración DNA de <i>S. mutans</i> por ciclo de amplificación de las muestras de saliva y placa dental de un grupo de niños de 8 años de edad.....	31
Figura N°15: Curva Estándar. Gráfica de concentracion de DNA a partir del valor cq de la muestra desconocida.....	33
Figura N°16: Gráfica de comportamiento de las muestras sin templado (NTC).....	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1: Cepas bacterianas utilizadas en este trabajo.....	16
Tabla N°2: Partidores utilizados en este trabajo.....	16
Tabla N°3: Equipos utilizados en este trabajo.....	16
Tabla N°4: Cuantificación espectrofotométrica. DNA total de muestras de saliva y placa dental de niños de 8 años de edad.....	30
Tabla N°5: Cuantificación de <i>S. mutans</i> en muestras de saliva y placa dental de niños de 8 años de edad mediante la técnica de qPCR.....	32