



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Caracterización microbiológica y fenotípica de *Streptococcus mutans*
en muestras de saliva

Trabajo de Titulación para optar al título de Licenciado en
Laboratorio Clínico

Autor:

Andagana Torres Juan Carlos
Nuñez Ramírez Carlos Daniel

Tutor:

PhD Ana Carolina González Romero

Riobamba, Ecuador. 2024

DECLARATORIA DE AUTORÍA

Nosotros, Juan Carlos Andagana Torres con cédula de ciudadanía 180455663-5, Carlos Daniel Nuñez Ramírez con cedula de ciudadanía 0604000679 autores del trabajo de investigación titulado: Caracterización microbiológica y fenotípica de *Streptococcus mutans* en muestras de saliva certificamos que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedemos a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba. 16 de mayo de 2024



Juan Carlos Andagana Torres

C.I: 1804556635



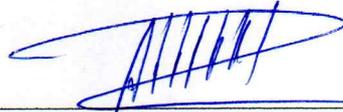
Carlos Daniel Nuñez Ramírez

C.I: 0604000679

DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, Msc. Ana Carolina González Romero catedrático adscrito a la Facultad de Ciencias de la Salud, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: Caracterización microbiológica y fenotípica de *Streptococcus mutans* en muestras de saliva, bajo la autoría de Juan Carlos Andagana Torres; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los 07 días del mes de mayo de 2024



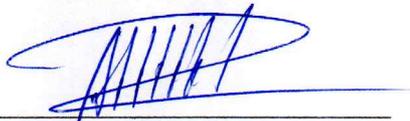
Ph.D. Ana Carolina González Romero

C.I:1758861858

DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, Msc. Ana Carolina González Romero catedrático adscrito a la Facultad de Ciencias de la Salud, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: Caracterización microbiológica y fenotípica de *Streptococcus mutans* en muestras de saliva, bajo la autoría de Carlos Daniel Nuñez Ramirez; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los 07 del mes de mayo de 2024



Ph.D. Ana Carolina González Romero

C.I:1758861858

CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

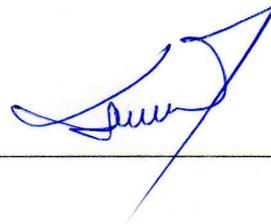
Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación “**Caracterización microbiológica y fenotípica de *Streptococcus mutans* en muestras de saliva**”, por Juan Carlos Andagana Torres con cédula de ciudadanía 180455663-5, Carlos Daniel Nuñez Ramírez con cedula de ciudadanía 0604000679, bajo la tutoría de Msc Ana Carolina González Romero; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 16 de mayo de 2024

Mgs. Mercedes Balladares Saltos
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO



Msc. Yisela Ramos Campi
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



Mgs. Elena Margarita Brito
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO





CERTIFICACIÓN

Que, **Andagana Torres Juan Carlos** con CC: **1804556635**, estudiante de la Carrera **Laboratorio Clínico**, Facultad de **Ciencias de la Salud**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado "**Caracterización microbiológica y fenotípica de Streptococcus mutans en muestras de saliva**", cumple con el 1 %, de acuerdo al reporte del sistema Anti-plagio **Turnitin**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 07 de mayo de 2024



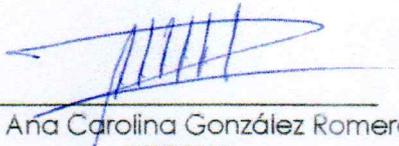
Dra. Ana Carolina González Romero
TUTOR(A)



CERTIFICACIÓN

Que, **Núñez Ramírez Carlos Daniel** con CC: **0604000679**, estudiante de la Carrera **Laboratorio Clínico**, Facultad de **Ciencias de la Salud**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado "**Caracterización microbiológica y fenotípica de Streptococcus mutans en muestras de saliva**", cumple con el 1 %, de acuerdo al reporte del sistema Anti-plagio **Turnitin**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 07 de mayo de 2024


Dra. Ana Carolina González Romero
TUTOR(A)

DEDICATORIA

A mis padres Víctor Andagana y Laura Torres

Porque han sido mi apoyo incondicional durante toda mi trayectoria estudiantil, motivándome siempre a superar mis retos con esfuerzo y dedicación. Su amor y aliento han sido fundamentales en cada paso que he dado siendo mis pilares en este camino hacia el éxito.

A mis hermanos y sobrinos

Porque me han dado fuerzas en los momentos más difíciles de la carrera, quienes su fe puesta en mí no me ha dejado rendirme sin antes darlo todo.

Juan Carlos Andagana Torres

Para mis padres Carlos Nuñez y Magaly Ramírez y a mi tía Priscila.

Quienes me han motivado y a seguir a lo largo de mi trayectoria, a mis hermanos Alisson y Dylan para demostrarles que con dedicación y esfuerzo todo es posible.

Carlos Daniel Nuñez Ramírez

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad Nacional de Chimborazo por haberme brindado la oportunidad de cursar mis estudios. A todos y cada uno de mis profesores. A mis tutores de prácticas. A mi tutora de tesis PhD Ana Carolina González Romero por su confianza, orientación y su compartir de conocimientos de manera invaluable. Y sobre todo a mi familia por su apoyo incondicional durante toda esta larga trayectoria.

Juan Carlos Andagana Torres

Agradezco a los docentes encargados de transmitirme años de experiencia y a aprendizaje.

A la Universidad Nacional de Chimborazo en la que compartí momentos inolvidables junto a mis compañeros. A mi tutora de tesis PhD. Ana Carolina González Romero que junto a su dedicación y tolerancia nos ha guiado con su vasto conocimiento.

Y a mis padres por darme la oportunidad.

Carlos Daniel Nuñez Ramírez

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	14
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	20
Microbiota bucal.....	20
La saliva.....	20
Caries dental.....	21
Patogénesis.....	22
Microorganismos asociados a la caries dental	22
<i>Streptococcus mutans</i> como principal agente etiológico de la caries dental	22
Clasificación de <i>S. mutans</i>	23
Transmisión, colonización y estabilidad de <i>S. mutans</i> en cavidad oral	24
Factores de virulencia	25
Medios de cultivo.....	27
Caracterización microbiológica y fenotípica de <i>S. mutans</i>	28
Condiciones del paciente para la recolección de saliva.....	29
Toma de muestra.....	29
Cultivo, aislamiento e identificación de <i>S mutans</i> en muestras de saliva.....	29
CAPÍTULO III. METODOLOGIA.....	31
Tipo de investigación.....	31
Población.....	32
Muestra	32
Criterios de inclusión	32
Criterios de exclusión	33
Estrategia de búsqueda.....	33
Procesamiento estadístico	33
Consideraciones éticas	33
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	55
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	57
ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Características fenotípicas de las colonias típicas de <i>S. mutans</i> en medios de cultivos selectivos utilizando muestras de saliva	36
Tabla 2. Perfil bioquímico de <i>S. mutans</i>	42
Tabla 3. Acciones patogénicas que impulsan y manifiestan la aparición de caries y enfermedades periodontales por <i>S. mutans</i>	45
Tabla 4. Diferentes métodos de diagnóstico microbiológico para <i>S. mutans</i>	52

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Identificación y visualización de la morfología de <i>S mutans</i> a través de la tinción de gram.	68
Anexo 2: Recolección de muestra no estimulada de saliva en reposo escupiendo (spitting)	68
Anexo 3: Características del <i>S. mutans</i> en cultivo agar MS después de 16 horas de incubación a 37°C en anaerobiosis	69

RESUMEN

Streptococcus mutans es el principal agente etiológico de la caries dental, y destaca especialmente por su alta prevalencia en escolares de 5 a 12 años. Su identificación es importante para el establecimiento del riesgo cariogénico y la toma de medidas de prevención. El objetivo de este proyecto fue investigar las características microbiológicas y fenotípicas del *S. mutans* presentes en muestras de saliva comprendiendo su implicación clínica y posibles aplicaciones prácticas para mejorar la salud bucal enfocados desde el área de laboratorio clínico. Esta investigación se llevó a cabo de forma documental, no experimental, descriptiva y cualitativa, con una población y muestra de 62 y 34 artículos científicos respectivamente. Los resultados nos permiten obtener una amplia visión, acerca de la patogenicidad de *S. Mutans*, su acidogenicidad, aciduricidad, su alta capacidad para formar biofilms entre otros. Además, según estudios variantes del medio de cultivo Mitis salivarius presentan una mayor especificidad para *S. Mutans* principalmente el agar SB-20M en donde sus colonias son grandes transparentes de aspecto granular similar al vidrio esmerilado con o sin gota de polisacárido extracelular. En cuanto a su perfil enzimático presenta: fermentación positiva de carbohidratos; hidrólisis negativa de la esculina en presencia de bilis; ureasa negativa; hidrólisis negativa de la arginina, y resistencia a 2 U de bacitracina. Actualmente, los métodos de identificación bacteriana van más allá de los métodos convencionales y se emplean métodos más complejos como los moleculares o la espectrofotometría de masas. Por tanto, este estudio destaca la importancia de conocer las características microbiológicas y fenotípicas de esta bacteria, su patogenicidad y los diferentes métodos que se pueden aplicar para su identificación.

Palabras claves: *Streptococcus mutans*, caracterización microbiológica, caracterización fenotípica, saliva.

Abstract

The main etiologic agent of dental caries is *Streptococcus mutans*, which stands out especially for its high prevalence in schoolchildren between 5 and 12 years of age. The identification of *Streptococcus mutans* is important for establishing cariogenic risk and for taking preventive measures. The aim of this research was to investigate the microbiological and phenotypic characteristics of *S. mutans* present in saliva samples, to understand their clinical implication and possible practical applications to improve oral health focused from the clinical laboratory area. This research was carried out in a documentary, non-experimental, descriptive and qualitative way, with a population and sample of 63 and 34 scientific articles, respectively. These results allow us to have a broad vision about the pathogenicity of *S. Mutans*, its acidogenicity, aciduricity, its high capacity to form biofilms, among others. In addition, according to studies, variants of the Mitis salivarius culture medium present a greater specificity for *S. Mutans*, mainly SB-20M agar, where its colonies are large transparent with a granular appearance similar to ground glass with or without a drop of extracellular polysaccharide. Concerning its enzymatic profile, it presents: positive fermentation of carbohydrates; negative hydrolysis of esculin in presence of bile; negative urease; negative hydrolysis of arginine, and resistance to 2 U of bacitracin. Nowadays, bacterial identification methods go further than conventional methods and use more complex methods such as molecular methods or mass spectrophotometry. Consequently, this study emphasizes the importance of knowing the microbiological and phenotypic characteristics of this bacterium, its pathogenicity and the different methods that can be applied for its identification.

Keywords:

STREPTOCOCCUS MUTANS, MICROBIOLOGICAL CHARACTERIZATION, PHENOTYPIC CHARACTERIZATION, SALIVA.



Firmado electrónicamente por:
ENRIQUE JESUS
GUAMBO YEROVI

Reviewed by:
Msc. ENRIQUE GUAMBO YEROVI
ENGLISH PROFESSOR
C.C. 0601802424

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

La caries dental es una enfermedad infecciosa, multifactorial y transmisible frecuente en los humanos, es azúcar-dependiente y provoca la destrucción del tejido dental debido a la presencia de ácidos orgánicos que son producidos por bacterias cariogénicas situadas en la película dental, sumado a un desequilibrio en el proceso de remineralización y desmineralización del esmalte a través del tiempo¹.

En este proceso se relacionan factores como la mala higiene bucal, estilo de vida, tipo de alimentación, edad, aspectos afectivos y socioeconómicos; componentes que originan la distribución de la caries dental en diferentes poblaciones y que son importantes y determinantes en su evolución y gravedad^{2,3}.

Fue a mediados del siglo XX en donde Keyes y Fitzgerald conceptualizaron a la caries dental como una enfermedad infecciosa y transmisible, y Loesche años posteriores postulo que las bacterias causantes de caries pertenecían a un grupo de especies bacterianas específicas acidógenas y acidúricas grampositivas, aunque actualmente las bacterias específicas que se sugería que son responsables de la caries son en realidad parte de la microflora autóctona⁴.

Este desequilibrio en el ecosistema oral que lleva al predominio de una flora considerada normal en cavidad oral y ahora considerada patógena provoca la desmineralización del esmalte originada por la acidez creciente del microambiente, producida por un grupo selectivo de bacterias, especialmente las del género *Streptococcus* spp. en donde la sacarosa es su principal fuente de alimento que promueve su crecimiento¹.

En cuanto a los principales microorganismos asociados con la producción de caries según su frecuencia tenemos: *S. mutans* (serotipo C); . A nivel epidemiológico el *S. mutans* ha demostrado ser el principal agente etiológico causante de lesiones cariosas por lo que las estrategias de aislamiento, identificación, tipificación, prevención y control están dirigidas hacia este⁵.

En los seres humanos se ha identificado para *S. mutans* los serotipos c, e y f. El serotipo c es considerado a nivel mundial, el más prevalente, en el continente asiático su prevalencia

oscila entre 70 y 85%, seguido del serotipo e y f, respectivamente. En el continente americano, no existen grandes registros que cuantifiquen la prevalencia de estos serotipos; sin embargo, en los estudios realizados la prevalencia del serotipo c varía entre 50 y 80%⁶.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que, en todo el mundo, la caries dental afecta a unos 2500 millones de personas, aproximadamente el 45 % de la población mundial y 486 millones con dientes deciduos. La mayoría de los afectados viven en países de bajos y medianos recursos y no tienen acceso a métodos preventivos y tratamientos odontológicos².

La OMS ha declarado que la caries dental es un problema de salud pública que afecta entre el 60% al 90% de los escolares, siendo altamente prevalente en los continentes de Asia y América Latina. En la literatura se ha reportado una prevalencia de la caries dental en niños en Asia del Sur del 30%, en el Este de Asia se ha reportado una prevalencia de 68,7%, Asia central un 43,9%⁷.

En África la OMS estimo que la caries dental no tratada en dientes permanentes presenta una prevalencia del 28,5% en la población mayor de 5 años, mientras que la caries dental no tratada en dientes primarios es la enfermedad crónica infantil más común alcanza una prevalencia del 38.6% en niños de 1 a 9 años en el 2019⁸.

La Región Europea registró la mayor prevalencia de enfermedades bucales importantes (50,1% de la población adulta) entre las seis regiones de la OMS a nivel mundial. Esto incluye la mayor prevalencia de caries en dientes permanentes, con un 33,6% de la población de la Región Europea, lo que representa casi 335 millones de casos en 2019⁹.

En Oceanía y Antártida no se encontró información sobre la prevalencia de caries dental debido a la carencia de estudios epidemiológicos enfocados en medir la prevalencia de caries en esta parte del mundo, además la baja densidad poblacional y las dificultades logísticas de realizar estudios en estas áreas puede ser una posible razón por la que no haya disponibilidad de datos.

En Estados Unidos, las encuestas nacionales han documentado niveles de caries dental no tratada en niños de 2 a 19 años durante varios períodos. Según la Encuesta Nacional de Examen de Salud y Nutrición (NHANES) para el período 2015-2016, la prevalencia de caries dental total y no tratada en dientes primarios o permanentes en escolares de 2 a 19 años fue del 45,8% y 13,0%, respectivamente¹⁰.

En América Latina se ha reportado que más del 50 % de niños de 5 a 6 años y adolescentes de 11 a 13 años presentan caries dental y que la región tropical presenta la mayor prevalencia. Algunos estudios en América Latina señalan que el 97,5 % de los adultos mayores (mayores de 60) ha perdido dientes y de ellos el 70,1 % reportó usar prótesis parcial o total, además el 95% tenía necesidades dentales insatisfechas expresando dolor, problemas para masticar, dificultades en el habla y apariencia entre otros⁷.

En Colombia, estudios han encontrado que, si bien la prevalencia de caries ha disminuido, sigue siendo preocupante. Según un estudio nacional de salud realizado en 2014, la frecuencia de esta infección fue del 37,45% a los 12 años de edad. Para los niños de 5 a 7 años que han experimentado esta patología, los informes indican una prevalencia del 35,3%^{7,11}.

Por otra parte, en Perú la salud bucal no ha sido un tema prioritario en las políticas de salud, esta falta de prioridad probablemente se deba a la alta prevalencia de otras enfermedades que amenazan la vida de los peruanos, existiendo escasos recursos financieros para la salud bucal. Según el último estudio epidemiológico en salud bucal a nivel nacional realizado por el Ministerio de Salud en el 2012-2014, se halló una prevalencia de caries dental de 85,6 % en niños de 3-15 años^{7,12}.

En Chile el comportamiento de la enfermedad en 2019 fue de 47,8 %, en la población de 6 a 12 años. Mientras que en Argentina en un estudio epidemiológico en el año 2015 se encontró una prevalencia de caries dental del 74,4 % en niños de 6 años y del 70 % en niños de 12 años⁷.

En Venezuela en un estudio epidemiológico en el 2010 se encontró una prevalencia de caries dental del 80,5 % en niños de 5 – 12 años. En cuanto a Brasil, según el Informe Nacional de

Salud Bucal del 2010 se ha reportado una prevalencia de caries dental de 53,4 % en niños de 5 años, de 56,5 % en niños de 12 años⁷.

En Ecuador hace años que no se realiza un estudio epidemiológico y las políticas en salud bucal son mínimas lo que evidencia su falta de normatividad y control ocasionando diversos problemas. Según un estudio realizado en junio de 2014 se encontró que en niños de 3 a 11 años existe una prevalencia de 62,39% y en individuos de 12 a 19 años una prevalencia de 31,28%⁷.

En un estudio realizado en la ciudad de Riobamba en el 2023 se analizaron la muestra de 111 niños, en edades entre 1 y 4 años, seleccionados de 5 centros de desarrollo infantil del Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal de Riobamba, en donde se detectó *S. mutans* en la saliva de 55 (49,5%) de ellos y de éstos, 39 (79%) mostraron un riesgo cariogénico de nivel medio¹³.

Es importante precisar que la información reunida sobre los datos epidemiológicos de cada país se la ha realizado considerando los últimos estudios realizados hasta la fecha, pero no se puede tener un acercamiento más claro de la realidad de esta problemática debido a que algunos de estos estudios se realizaron hace muchos años atrás.

Sin embargo, no podemos desestimar el impacto negativo de esta patología en cuanto a dolor, infección, deterioro funcional y disminución de la calidad de vida, junto con los altos costos de tratamiento y posibles consecuencias adversas adicionales, incluyendo trastornos gastrointestinales, malnutrición y anemia. Por eso la salud bucal y general no deben interpretarse separadamente, ya que al valorar al individuo garantizaremos su bienestar y calidad de vida¹.

Por ello es imprescindible efectuar un diagnóstico y una detección de lesiones de caries lo más preciso posible, porque la caries como enfermedad infecciosa, puede ser tratada en una forma más efectiva y menos invasiva entre más temprana sea su detección¹⁴.

Para realizar un diagnóstico preciso de la caries, se deben considerar tres componentes para determinar el mejor tratamiento para cada paciente: 1) La detección de las lesiones de caries, 2) La medición de la actividad de las lesiones y 3) La medición del riesgo de caries¹⁴.

Para realizar la medición de riesgo de caries, se realiza el recuento de colonias de *S. mutans* en un medio de cultivo selectivo. Recuentos superiores a 100 mil UFC/ml de este microorganismo en saliva, se consideran indicadores de riesgo de caries, y recuentos salivales más bajos concuerdan con una tendencia mínima a contraer la enfermedad.

Actualmente hay diferentes medios de cultivo destinados para el aislamiento de *S. mutans*. Entre estos tenemos: Agar Mitis salivarius con bacitracina (MSB), Agar Mitis Salivarius con bacitracina y kanamicina (MSKB), Agar glucosa-sacarosa-telurito bacitracina (GSTB), Agar Tripticasa de soya con sacarosa y bacitracina (TYS20B) y Agar triptona extracto de levadura cisteína con sacarosa y bacitracina (TYCSB) entre otros¹⁵.

Esta investigación es fundamental para resaltar las características microbiológicas y fenotípicas de *S. mutans* principal agente etiológico de la caries dental. La identificación de esta bacteria en muestras de saliva permite establecer el riesgo cariogénico, identificar factores de riesgo como la dieta y la higiene bucal y ayuda a diseñar estrategias personalizadas para mantener una buena salud oral y prevenir problemas dentales.

Al evaluar las características microbiológicas y fenotípicas de *S. mutans* nos planteamos la siguiente interrogante ¿Cuáles son los principales medios de cultivo y pruebas bioquímicas para la identificación de este microorganismo en muestras de saliva y que acciones patogénicas le confieren a la bacteria la capacidad de establecerse en la cavidad oral como el principal agente etiológico de caries dental?

El propósito de esta investigación fue recopilar información acerca de la caracterización microbiológica y fenotípica, métodos de identificación y acciones patogénicas del *S. mutans*. Esta temática cobra importancia por la alta prevalencia de caries dental y el aporte significativo de la medición del riesgo cariogénico para evaluar, tratar o prevenir la caries dental.

El principal objetivo de este estudio fue investigar mediante la revisión y el análisis de artículos científicos las características microbiológicas y fenotípicas del *S. mutans* presentes en muestras de saliva comprendiendo su implicación clínica y posibles aplicaciones prácticas para mejorar la salud bucal enfocados desde el área de laboratorio clínico describiéndolos en 3 acápites:

- Describir las características fenotípicas de las colonias típicas de *S. mutans* que crecen en los medios de cultivo selectivo a través de la revisión de información recopilada de artículos y revistas científicas publicadas utilizando muestras de saliva.
- Distinguir las acciones patogénicas que impulsan y manifiestan la aparición de caries y enfermedades periodontales por *S. mutans* a través de información recopilada de artículos científicos.
- Analizar los diferentes métodos de diagnóstico microbiológico de *S. mutans* mediante la revisión de la literatura científica.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

Microbiota bucal

La cavidad oral está compuesta por un complejo ecosistema, con cientos de especies de microorganismos, la mayoría de estas son bacterias de las cuales apenas solo el 50% de las especies se pueden cultivar. La composición del microbiota oral varía según las distintas superficies como dientes o mucosa y más aún en lugares con fisuras o surcos gingivales lo que a su vez influye en la capacidad de algunas especies para colonizar y dominar una zona específica¹⁶.

Los microorganismos colonizan la cavidad bucal humana en cuestión de horas después del parto. Durante el desarrollo posnatal, los cambios fisiológicos, como la erupción de la dentición primaria y su sustitución con dentición permanente, alteran los hábitats microbianos, y pueden llegar a cambios de composición de la flora microbiana en las diferentes fases de la vida de las personas¹⁷.

La microbiota juega un papel fundamental en la inducción, la formación y la función del sistema inmune del huésped. Cuando funciona de manera óptima la alianza, sistema inmune-microbiota, permite la inducción de respuestas protectoras a los patógenos y las vías de regulación implicados en el mantenimiento de la tolerancia a antígenos inocuos¹⁷.

La saliva

La saliva es un líquido de la cavidad oral que posee numerosas funciones entre las que destacan: su papel protector de la salud bucal, la formación del bolo alimenticio, la digestión, habla entre otras. A nivel dental este líquido permite mantener la mineralización de la dentadura y actúa como antimicrobiano, normalmente se produce alrededor de 500 a 1500 mL¹⁸.

Está compuesta principalmente por agua, iones fuertes y débiles (con capacidad amortiguadora), compuestos orgánicos y lípidos (en pequeñas cantidades) y más de 300 proteínas; estas últimas tienen amplias propiedades relacionadas con la respuesta inmune y

defensiva de la cavidad oral como lo son el lisosoma, lactoferrina, lactoperoxidasas, inmunoglobulinas, que actúa en la protección y eliminación de bacterias^{18,19}.

En la saliva se tiene un mecanismo buffers que intenta mantener el pH normal de la saliva que oscila entre el oscila entre 6,7-7,3 pero como se ha podido comprobar este mecanismo en determinadas circunstancias no lo consigue, principalmente por: ingesta desproporcionada de alimentos o bebidas con pH ácido, higiene bucal deficiente, poco control de placa bacteriana, presencia de polícaries, enfermedad periodontal etc.; estrés con desequilibrio del sistema nervioso que provoca disminución del flujo salival, medicación que disminuye el flujo salival, tabaco y combinación de las anteriores entre otras^{20,21}.

Caries dental

La caries dental es una patología de origen infeccioso, multifactorial, localizado, posteruptivo que destruye los tejidos duros dentales. Evoluciona por consecuencia de un desequilibrio ecológico en la microbiota oral que lleva al predominio de una flora antes considerada normal en la cavidad oral y ahora convertida en patógena, influenciada por la interacción de tres factores principales: el huésped (la higiene bucal, la saliva y las características de los dientes), el microbiota y el sustrato (dieta), que condiciona la desmineralización de los dientes²².

La enfermedad en una etapa inicial es reversible y puede ser detenida en cualquiera de sus etapas, incluso si existe la destrucción del esmalte o la dentina, cavitación, modificando los factores que inciden en su desarrollo. Este proceso es considerado una enfermedad crónica, con una progresión lenta en el tiempo en la mayor parte de los individuos y que puede afectar tanto la corona como la raíz de las piezas dentales temporales y permanentes en todas sus superficies²³.

Sin un abordaje terapéutico oportuno de la remoción de caries, ocurrirá una inflamación pulpar (pulpitis reversible), progresando hacia una pulpitis irreversible, que terminará acabando con la vitalidad de la pieza dental, trayendo consigo la destrucción y pérdida del órgano dental. Esto puede generar alteraciones a nivel funcional, estético y psicosocial. En

el aspecto funcional se observará una deficiencia masticatoria, originando una alteración en la nutrición y alimentación e incluso puede afectar al habla sobre todo en niños²⁴.

Patogénesis

La caries dental se produce por un desbalance en el equilibrio fisiológico entre la superficie mineral del diente y la biopelícula, estructura que actúa como protector frente a presiones y variaciones del medio, defensas del hospedero y antimicrobianos. Bacterias endógenas, principalmente *Streptococcus* spp. y *Lactobacillus* spp., producen ácidos orgánicos como producto del metabolismo de fermentación de los carbohidratos²³.

Estos ácidos provocan un descenso del pH bajo el valor crítico (pH 5,5) en el cual el tejido dentario comienza a desmineralizarse. Si no se restaura el equilibrio en el proceso de mineralización y desmineralización de las superficies dentarias se producirá el colapso estructural de los tejidos, lo que derivará en la cavitación del diente. Este proceso se puede revertir en etapas tempranas, usando fluoruros, que actúan como catalizadores para la difusión de calcio y fosfato al interior de la estructura mineral del diente²³.

Microorganismos asociados a la caries dental

Los microorganismos que poseen un alto grado cariogénico asociados a la producción de caries son: a) *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) principalmente el serotipo c, *Streptococcus sobrinus* (*S. sobrinus*) y *Streptococcus gordonii*; y b) especies de *Lactobacillus* y *Actinomyces*⁵.

***Streptococcus mutans* como principal agente etiológico de la caries dental**

El *S. mutans* fue nombrado así en 1924 por J. Clarke quien pensaba que las células de forma ovalada observadas eran formas mutantes de estreptococos. Sin embargo, fue a finales de la década de 1950 que *S. mutans* captó la atención dentro de la comunidad científica y, a mediados de la década de 1960, los estudios clínicos y de laboratorio en animales describieron a *S. mutans* como un agente etiológico importante en la caries dental²⁵.

Las colonias de *S. mutans* se observan como cocos Gram positivos dispuestos en cadenas (Anexo 1) cuando se tiñen con Gram. Esta bacteria es inmóvil, catalasa negativa y productora de ácido láctico, con la capacidad de reducir el pH de un medio de pH 7 a pH 4.2 en aproximadamente 24 horas. Además, fermenta glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con producción de ácido. Normalmente, no desamina la arginina para producir amoníaco. En agar sangre, no produce hemólisis ni decoloración, siendo principalmente alfa o gamma hemolítico en agar sangre de cordero, aunque se han reportado cepas hemolíticas²⁶.

En los cultivos selectivos, las colonias son fácilmente diferenciadas: altas, convexas, pulvinadas, mucoides, de 0.5 a 1 mm de diámetro, y opacas con un aspecto que recuerda al vidrio esmerilado. Tiene la habilidad de sobrevivir, crecer y mantenerse en condiciones ácidas, aunque es especialmente acidogénico, y no es tan acidúrico como *S. sobrinus*. Esto es debido a una proteína llamada FATPasa unida a la membrana que transloca los protones fuera de la célula, evitando la disminución del pH intracelular. Esta característica hace que *S. mutans* sea bastante cariogénico y es por esta razón que los tratamientos específicos sean requeridos²⁶.

Clasificación de *S. mutans*

En los seres humanos se ha identificado para *S. mutans* los serotipos c, e y f, siendo el serotipo c el más prevalente a nivel mundial; y para *S. sobrinus* los serotipos d y g. Mediante el empleo de técnicas bioquímicas se demostró que el polisacárido específico de la pared celular de *S. mutans* consiste en un polímero de ramnosa-glucosa, el cual contiene una columna vertebral de ramnosa y cadenas laterales de glucosa. Entre las características principales de los serotipos de esta bacteria destacan la alta diversidad, homogeneidad y estabilidad⁶.

En las investigaciones de los últimos años se ha logrado detectar un nuevo serotipo, el serotipo k, el cual se caracteriza por una drástica reducción de la cantidad de cadenas laterales de glucosa, debido a la inhibición de la producción de glucosa por falta de actividad de las glucosiltransferasas presentando, además, defectos en las proteínas superficiales como en el antígeno proteico y las proteínas de unión a glucanos. Esta variación en los antígenos

proteicos le confiere un bajo nivel de cariogenicidad, sobreviviendo más tiempo en sangre debido a su baja antigenicidad⁶.

Transmisión, colonización y estabilidad de *S. mutans* en cavidad oral

La cavidad bucal al momento de nacer es estéril, sin embargo, durante el parto se adquieren unos pocos microorganismos. Horas posteriores al nacimiento, microorganismos de la cavidad bucal de la madre, del personal de maternidad o, posiblemente algunos microorganismos del medio ambiente pueden comenzar a colonizar y establecerse en la cavidad bucal del niño²⁷.

La principal fuente de transmisión es la saliva materna conocida como la transmisión vertical, mecanismo en el que influyen varios factores como lo es la cantidad de inóculos, el tiempo de duración, la frecuencia de exposición y la dosis infecciosa mínima. Se ha mencionado que mientras más temprano sea la colonización mayor será el riesgo de desarrollar caries a corto plazo. Además, *S. mutans* puede ser transmitido por la saliva de otros miembros de la familia, así como por otras personas cercanas al entorno del niño denominándose este mecanismo como transmisión horizontal⁶.

Posterior a la adhesión y colonización, la actividad metabólica de la comunidad pionera modifica el medio local, facilitando la colonización de otras especies bacterianas. Durante y luego de la erupción de los dientes, ocurre un cambio importante en el ecosistema bucal del lactante, ya que se agregan dos nuevos hábitats a la cavidad bucal, que son susceptibles a la colonización: la superficie del esmalte dental y el surco gingival. Las especies *Streptococcus* spp y *Actinomyces* spp son aquellas que prefieren la colonización de tejidos duros, colonizando de modo selectivo la superficie del esmalte recubierta por la biopelícula dental adquirida²⁷.

El proceso de colonización puede dividirse en tres fases: a) adhesión de células bacterianas a la película salival, b) formación de microcolonias que expresan moléculas señal y sustancia polimérica extracelular y c) acumulación de bacterias cementadas por polisacáridos y glucoproteínas salivales²⁸.

Factores de virulencia

Este microorganismo posee diversos mecanismos virulentos que forman parte del inicio y desarrollo del proceso cariogénico. Los factores de virulencia son aquellas condiciones o características específicas que ayudan y protegen al *S. mutans* de las defensas del hospedero, le permiten mantener su nicho ecológico en la cavidad oral y contribuyen con su capacidad de causar daño²⁹.

Acidogenicidad

El *S. mutans* fermenta una gran variedad de azúcares de la dieta para producir por glucolisis ácidos orgánicos, en especial ácido láctico, como producto final del metabolismo. La acumulación ácida puede disminuir el pH de la placa oral y provocar la desmineralización del esmalte. Se considera que este microorganismo metaboliza sacarosa a ácido láctico más rápido que otras bacterias orales. Esta propiedad es la más relacionada con su sistema múltiple para transportar y metabolizar sacarosa³⁰.

Aciduricidad

Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo. Esta bacteria sobrevive y realiza la glucolisis a valores bajos de pH haciéndolo dentro de la matriz de la biopelícula; lo que provoca la desmineralización del esmalte adyacente³⁰.

Acidofilicidad

Su habilidad para fermentar una variedad de carbohidratos de la dieta puede de manera rápida hacer descender el pH del ambiente bucal. En consecuencia, hace la placa dental inhabitable para muchas especies rivalizantes y puede conducir a la desmineralización del diente. La producción de ácido por este microorganismo patógeno provocaría su destrucción si no fuera por su extraordinaria habilidad para soportar el ataque ácido con la utilización de mecanismos de tolerancia ácida desarrollados³⁰.

Síntesis de glucanos y fructanos

El mecanismo de su adhesión está relacionado a la síntesis de dos enzimas extracelulares la glucosiltransferasa (GTF) y la fructosiltransferasa (FTF). Estas enzimas son responsables de la síntesis de polisacáridos extracelulares como el glucano y el fructano. Estos polímeros facilitan el apego de la bacteria a la superficie del diente³⁰.

Producción de dextranasa

Las bacterias tienen la posibilidad de sintetizar y liberar enzimas glucanohidrolasas, como la dextranasa y la mutanasa. Estas se disponen en la superficie de las células bacterianas en contacto con el glucano, lo hidrolizan y facilitan así el paso de los productos de la hidrólisis al interior de esta. Las bacterias pueden utilizar los glucanos extracelulares como fuente de energía. Además de movilizar reservas de energía, esta enzima puede regular la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano³⁰.

Producción de mutacinas

Las mutacinas son bacteriocinas producidas por el *S. mutans*. Son proteínas que interfieren en el crecimiento de otros microorganismos que tienen una relación cercana a la bacteria; y desempeñan un rol importante en el establecimiento y balance de esta especie en la placa dental³⁰.

Síntesis de polisacáridos intracelulares, como el glucógeno

Sirven como reserva alimenticia y mantienen la producción de ácido durante largos períodos aún en ausencia de consumo de azúcar³⁰.

Capacidad adhesiva de *S. mutans* al esmalte del diente

Para la colonización bacteriana, es imprescindible la formación previa de una fina película de proteínas salivales sobre la superficie del diente: la película adquirida. La unión de las bacterias a esta se produce por uniones electrostáticas; y estudios recientes han evidenciado la acción de moléculas de naturaleza proteica en la superficie de las bacterias (adhesivas), que se unen a las proteínas salivales facilitando la adherencia bacteriana. Se ha observado que mientras mayor es la capacidad de adherencia del microorganismo, mayor es la experiencia de caries dental³⁰.

La bacteria obtiene su energía del alimento que se ingiere, su flexibilidad genética le permite romper toda una amplia gama de hidratos de carbono. Entre las sustancias que aprovecha figuran la glucosa, fructosa, sacarosa, galactosa, maltosa, rafinosa, ribulosa, melibiosa e incluso el almidón²⁵.

La bacteria fermenta todos estos compuestos al disponer de enzimas, proteínas que rompen las moléculas de hidratos de carbono y los convierte en varios subproductos de su metabolismo, como el etanol o el ácido láctico. A la postre, todos estos subproductos acidifican la boca y los dientes, lo que inhibe a las otras bacterias, lo que permite al *S. mutans* mantener una posición de claro dominio³⁰.

Medios de cultivo

En general hay muchas dificultades técnicas para obtener muestras representativas de diferentes sitios orales y para aislar, cultivar y contar los microorganismos. No existe un solo método de cultivo para examinar la variable y compleja placa dental que satisfaga todas las condiciones necesarias. En algunos casos se requieren procedimientos estrictamente anaeróbicos. Afortunadamente, muchas de las especies de estreptococos orales pueden aislarse de varios sitios usando medios selectivos como el Agar Mitis Salivarius (MS)¹⁵.

Aunque el Agar MS fue originalmente desarrollado para aislar estreptococos fecales, su uso ha predominado sobre otros medios de cultivo para el aislamiento de estreptococos orales,

incluyendo *S. mutans*. En el agar MS, muchos estreptococos orales muestran una morfología característica de las colonias (blanquecinas, de bordes definidos, colonias firmes muy adherentes al medio de cultivo) lo cual permite su diferenciación inicial¹⁵.

Usualmente, la placa de agar se cultiva en una atmosfera del 95% de nitrógeno y 5% de dióxido de carbono a 37°C por 1 o 2 días seguida de una incubación en aire por 1 o 2 días. Además de la morfología característica de las colonias, los estreptococos orales pueden diferenciarse por su habilidad para fermentar ciertos azúcares (especialmente manitol y sorbitol) y por adherirse a superficies lisas en presencia de sacarosa¹⁵.

El agar MS es el medio más ampliamente usado para aislar *S. mutans* y otras especies orales de estreptococos. Este agar ha sido modificado para ser más selectivo en el aislamiento de *S. mutans* algunos ejemplos es la adición de sulfonamida (Agar MC), bacitracina (Agar MSB), polimixina o sacarosa (MS40S) entre otros medios¹⁵.

Caracterización microbiológica y fenotípica de *S. mutans*

El recuento de colonias de *S. mutans* es una técnica utilizada para estimar la cantidad de esta bacteria presente en una muestra. Se realiza mediante la siembra de diluciones de la muestra en un medio de cultivo selectivo que favorezca el crecimiento del microorganismo. Después de un periodo de incubación adecuado, se cuentan las colonias que han crecido y se calcula el número de unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro de muestra ¹⁵.

Los métodos de recuento permiten determinar el grado de colonización producida por *S. mutans* según las edades, siendo de gran utilidad para identificar la población de alto riesgo de caries dentales y su aplicación permitiría desarrollar programas de prevención en salud oral en poblaciones específicas y vulnerables¹⁵.

Condiciones del paciente para la recolección de saliva

Se debe instruir al paciente para que la noche anterior a la toma se realice la higiene bucal normalmente, y debe de acercarse en las primeras horas de la mañana antes del cepillado y la ingesta de alimentos, para la recolección, esta puede ser estimulada por medio de la masticación de un trozo de parafina solida durante dos minutos, o en caso de niños es recomendado la recolección sin estimular. Para el caso de la toma de muestra sin estimular es necesario posicionar de manera relajada al paciente evitando movimiento de mejillas y mandíbula apoyando la lengua en las superficies linguales inclinando la cabeza hacia adelante y pidiendo que escupa, una vez recogida la muestra se mide el pH salival y las muestras son trasladadas a refrigerar a 4°C hasta su posterior procesamiento^{19,31}.

Toma de muestra

Para la obtención de saliva en reposo escupiendo es necesario materiales como lo son tubos de ensayo, frasco estéril de recolección de muestra y cronometro:

1. Se coloca al paciente sentado de manera relajada evitando que realice movimientos de mejillas o mandíbula apoyando la lengua en la superficie linguales de los incisivos superiores, ubicamos los antebrazos de tal manera que estén apoyados sobre las piernas, pedimos que trague saliva que tiene en la boca para iniciar la prueba.
2. Con los labios cerrados pedimos al paciente que incline la cabeza hacia adelante y escupa en el recipiente estéril de plástico dando una indicación para escupir al final de cada minuto durante cinco minutos

La saliva es recogida en un tubo graduado y se expresa su valor en ml/min, estos valores puede variar según la persona¹⁹. (Anexo 2)

Cultivo, aislamiento e identificación de *S mutans* en muestras de saliva

Con el fin de iniciar el aislamiento de *S. mutans* se elige los medios en los que se va a sembrar la bacteria, comúnmente se elige el medio agar MS adicionado con bacitracina (0.05 %) MSB por ser altamente selectivo. Se toma un mililitro de muestra de saliva para realizar diluciones en nueve mililitros de solución salina estéril contenida en tubos de ensayo, la cual

por medio de vórtex se homogeniza por un minuto, a partir de esta dilución se realizan diluciones seriadas (10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}) de cada dilución para posteriormente sembrarlas en el medio de cultivo e incubarlas de 48-72 horas^{32,32}.

Se lleva a cabo el recuento de colonias con morfología característica de la bacteria. Las cuales presentan una forma muy convexa, elevada, ligeras y con un aspecto similar al vidrio azul esmerilado, con superficie rugosa o lisa (Anexo 3). Se realiza el cálculo respectivo con el factor de dilución de la caja donde crecen. El recuento final se expresa en UFC por mililitro de saliva^{32,33}.

Después del recuento bacteriano, se examinan de 5 a 20 colonias. Mediante la tinción de Gram, se observa que las colonias de *S. mutans* son un coco Gram positivo dispuesto en pares o cadenas. A continuación, se someten a las siguientes pruebas bioquímicas: fermentación de rafinosa, manitol, melobiosa, trehalosa e inulina; hidrólisis de la esculina en presencia y ausencia de bilis; prueba de ureasa; hidrólisis de la arginina, y resistencia a la bacitracina³².

El perfil bioquímico de *S. mutans* incluye: fermentación positiva de rafinosa, manitol, melobiosa, trehalosa e inulina; hidrólisis negativa de la esculina en presencia de bilis e hidrólisis positiva de la esculina en ausencia de bilis; prueba de ureasa negativa; hidrólisis negativa de la arginina, y resistencia a 2 U de bacitracina³².

CAPÍTULO III. METODOLOGIA

Tipo de investigación

El presente proyecto de investigación es de tipo bibliográfico, se recabó información y se desarrolló bajo los distintos parámetros que se mencionan continuación:

- **Según su enfoque:** el siguiente trabajo es un estudio que tuvo un enfoque cualitativo de tipo revisión bibliográfica, la misma que abarca información de los últimos 10 años sobre la Caracterización microbiológica y fenotípica de *Streptococcus mutans* en muestras de saliva. Para la obtención de información se utilizaron bases de datos científicas como Scielo, PubMed, Google Scholar, Elsevier, Redalyc, así como guías y protocolos aprobados para su aplicación, no se requirió el uso de pruebas estadísticas para el análisis de información.
- **Según el nivel:** esta investigación fue de carácter descriptivo, ya que se basó en la búsqueda de documentos publicados en revistas con impacto mundial indexadas en bases de datos científicas, cuyos resultados permitió ampliar las bases del conocimiento acerca de la caracterización microbiológica y fenotípicas de *S mutans* en muestras de saliva.
- **Según el diseño:** es documental y no experimental porque se basó en la revisión bibliográfica de artículos, revistas, libros y fuentes con información actualizada publicadas en las diferentes bases de datos indexadas, permitiendo sustentar la investigación sin la necesidad de manipular variables.
- **Según la cohorte:** la investigación es de corte transversal, ya que el estudio se desarrolló en un solo momento basándose en la información publicada en distintas fuentes desde el año 2014 hasta el año 2024

- **Según la cronología:** es retrospectivo porque en el proyecto se trabajó con diferentes fuentes principales y bases de datos ya existentes antes de la investigación que recopilaban información sobre el tema de interés.

Población

La población de estudio quedo conformada por 63 artículos científicos en idioma inglés, español y portugués, que abordaban temas sobre la caracterización microbiológica y fenotípica de *S. mutan* en muestras de saliva los cuales se ubican en: Google Scholar (21), SciELO (10), Repositorios (8), Elsevier (6), ASM Journal (3), Mediagraphic (3), WHO (2), Redalyc (2), PubMed (2), Dialnet (2), Springer Link (1), Frontiers (1), Scientific reports (1), Global Index Medicus (1). Tomando en los criterios de inclusión, donde estas fuentes debieron ser publicadas no mayor a 10 años.

Muestra

La muestra para la realización del desarrollo de la investigación quedó conformada por 34 artículos de revisiones bibliográficas relacionadas con la caracterización microbiológica y fenotípica del *S. mutans* en muestras de saliva, publicadas y disponibles en las siguientes bases de datos: Google Schoolar (11), Elsevier (6), ASM Journal (3), Repositorio (2), Scielo (2), Redalyc (2), PubMed (2), Dialnet (2), Springer Link (1), Frontiers (1), Scientific reports (1), Global Index Medicus (1).

Criterios de inclusión

- Artículos que trataban acerca de la importancia de la identificación de *S. mutan* en muestras de saliva.
- Artículos que contenían información acerca de las características microbiológicas y fenotípicas del *S mutans*.
- Artículos que contenían información acerca de los métodos de diagnóstico e identificación de *S. mutans*
- Artículos que trataban de las acciones patogénicas de *S. mutans* en la caries dental

Criterios de exclusión

- Artículos con fechas de publicación de más de 10 años.
- Artículos con enfermedades periodontales no asociados a *S. mutans*.
- Artículos enfocados en otros microorganismos cariogénicos

Estrategia de búsqueda

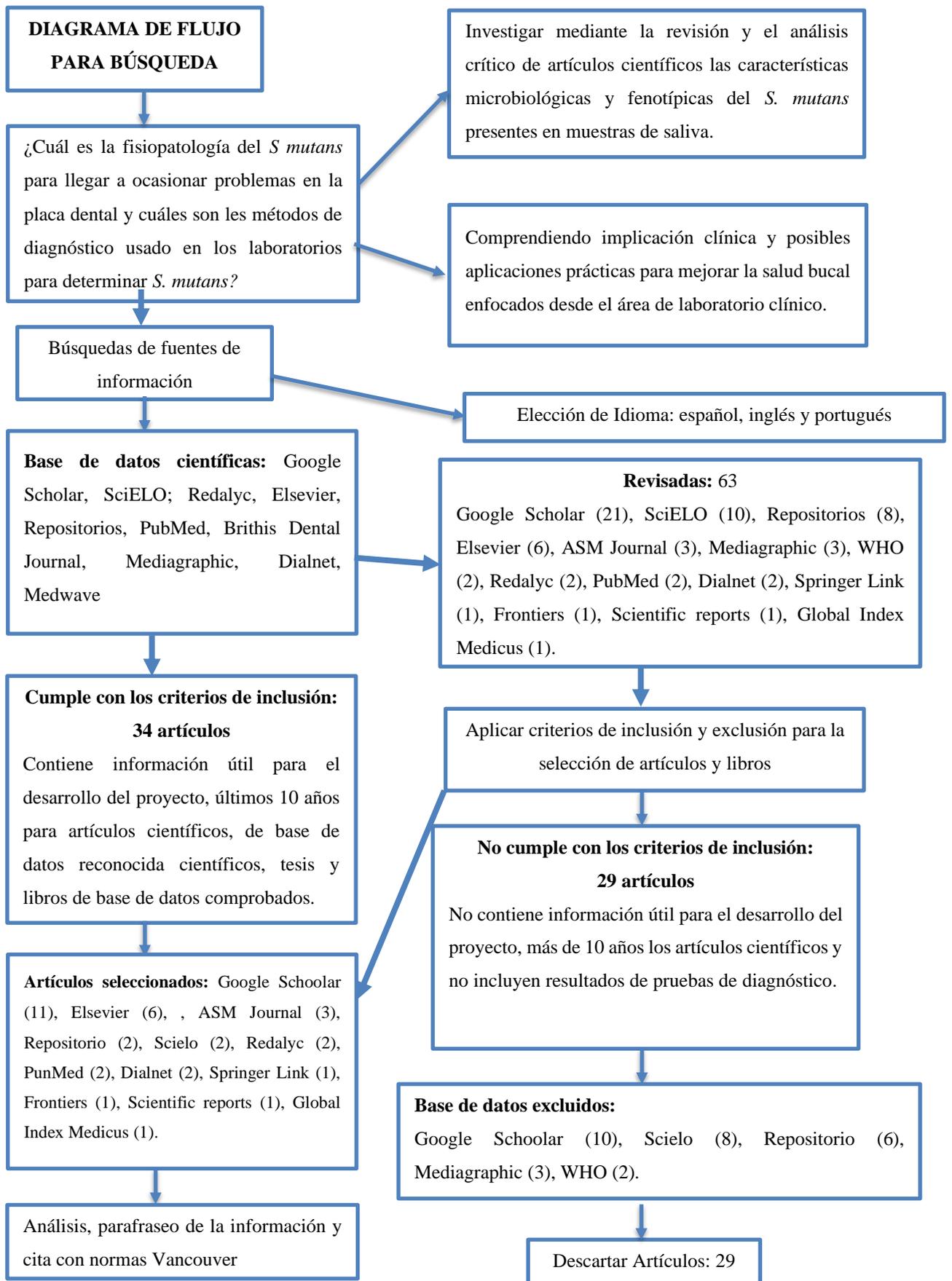
Para la búsqueda de información se optó por colocar palabras claves en idioma inglés y español como: “*S. mutans*” “microbiology” “Biology of *Streptococcus mutans*”, “características microbiológicas y fenotípicas de *S mutans*”, “”. Además, fue necesario aplicar operadores booleanos tales como: “y, o, no”, “and, or, not”. Luego de la búsqueda sobre información relevante se clasificó de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión, se analizaron de manera rigurosa y se emplearon para la realización del proyecto final de investigación.

Procesamiento estadístico

La presente investigación es de carácter cualitativo no se trabajó con datos numéricos, se desarrolló en base al análisis de información relevante e interpretación de resultados obtenidos de diferentes documentos científicos bibliográficos -descriptivos

Consideraciones éticas

No generara conflictos bioéticos debido al hecho de ser un proyecto de revisión bibliográfica, en donde solo se trabajó con artículos y revistas científicas, y no con pacientes ni muestras biológicas.



CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la actualidad la caries dental es una de las enfermedades más frecuentes de la cavidad bucal, afectando principalmente a niños de 5 a 12 años. Esta afección progresa con la edad a menos que se hagan esfuerzos para controlarla. La distribución y severidad de la caries dental varía entre regiones, y su aparición está frecuentemente asociada a factores nutricionales, socioculturales, económicos y ambientales.

S. mutans tiene importantes propiedades que le permiten predominar en la biopelícula dental e inducir el desarrollo de caries. Estas propiedades se conocen como factores de virulencia y proporcionan al microorganismo ventajas de supervivencia sobre otras bacterias comunes en el ecosistema bucal.

Gracias a los avances tecnológicos ya no solo es posible identificar a este microorganismo mediante los métodos microbiológicos convencionales, sino que también se pueden aplicar métodos más complejos como moleculares, espectrofotometría de masas entre otros. Los objetivos planteados para dar salida a la presente investigación se describen en 3 acápites:

- Describir las características fenotípicas de las colonias típicas de *S. mutans* que crecen en los medios de cultivo selectivo a través de la revisión de información recopilada de artículos y revistas científicas publicadas utilizando muestras de saliva.
- Distinguir las acciones patogénicas que impulsan y manifiestan la aparición de caries y enfermedades periodontales por *S. mutans* a través de información recopilada de artículos científicos.
- Analizar los diferentes métodos de diagnóstico microbiológico de *S. mutans* mediante de la revisión de la literatura científica.

Las características fenotípicas de las colonias típicas de *S. mutans* que crecen en los medios de cultivo selectivo utilizando muestras de saliva se observan en la tabla 1

Tabla 1. Características fenotípicas de las colonias típicas de *S. mutans* en medios de cultivos selectivos utilizando muestras de saliva

Medios de cultivo	Microorganismo	Forma/consistencia	Color	Tamaño	Aspecto	Autores
Agar mitis salivarius (MS)	<i>S. mutans</i>	Colonia elevada, convexa, ondulada, márgenes irregulares	Azul claro	0.5 a 1 mm	Opacas, granular con apariencia de “vidrio esmerilado”. Pueden mostrar una burbuja brillante en la superficie de la colonia (Anexo 2).	Oliveira, 2023 ³⁴
	<i>S. salivarius</i>	Colonias grandes, elevadas	Azul claro	2-5 mm	Opacas, lisas o ásperas, brillantes, con una apariencia clásica de “goma de mascar”	
	<i>S. mitis</i>	Colonias planas, pequeñas, duras	Azul	0,2 mm	Con un centro en forma de cúpula	
	<i>S. sanguinis</i>	Colonias elevadas, duras, incrustadas en el agar, adheridas a la superficie media y no fáciles de eliminar			Apariencia lisa	
Agar mitis-salivarius-	<i>S. mutans</i>	Colonias elevadas, convexas,	Negro azul	0.5-1 mm	Apariencia de vidrio esmerilado	Zeng, 2020 ³⁵

bacitracina (MSB)		onduladas, con margen irregular, arraigado en el agar, en forma de estrella				
	<i>S. sobrinus</i>	Colonias con margen irregular, arraigado en el agar, rodeado de polisacárido	Negro azul	0.5-1 mm	Apariencia de vidrio esmerilado	
Agar sacarosa-bacitracina modificado (SB-20 M)	<i>S. mutans</i>	Colonias grandes, superficie granular	Transparentes	-	Similar al vidrio esmerilado, con o sin gota de polisacárido extracelular	Saravia, 2019 ³⁶
	<i>S. sobrinus</i>	Colonias con o sin entorno, pueden tener una forma de estrella, pareciendo penetrar la superficie del agar.	Blancas		Opacas, halo blanquecino o gota de polisacárido extracelular.	
Agar Mutans Sanguis (MSA)	<i>S. mutans</i>	Colonias irregulares, se	Blancas o amarillas	0.5-2 mm	Ásperas, se asemejan al vidrio esmerilado granular	Deepika, 2018 ³⁷

		pueden quitar o separar fácilmente del medio de agar				
	<i>S. sanguinis</i>	Colonias duras, consistencia gomosa, que se adhieren fuertemente al medio de agar, lo que las hace difíciles de eliminar con un asa de inoculación	Gris, blanca o incolora	1-3 mm	Lisas o ásperas,	

Análisis

La tabla 1 muestra las características morfológicas de las colonias de *S. mutans* y otras especies de estreptococos con características microbiológicas similares en medios de cultivo selectivos como agar MS, agar MSB, agar SB-20M y agar mutans sanguis, incluyendo color, forma, consistencia, tamaño y aspecto.

Discusión

Según López³⁸, en general hay muchas dificultades técnicas para obtener muestras representativas de diferentes sitios orales y para aislar, cultivar y contar los microorganismos. Sin embargo, muchas de las especies de estreptococos orales pueden aislarse de varios sitios usando medios selectivos como agar MS, MSB entre otros más específicos destinados para la diferenciación de *S mutans*

El agar MSB es el agar mitis salivarius suplementado con bacitracina 0,2 U/ml y sacarosa al 20 %. Las colonias de *S. mutans* que crecen en medios con sacarosa tienen la capacidad de producir polisacáridos extracelulares (dextrano) y adquirir una apariencia opaca, rugosa y blanca, no adherente al medio de cultivo y ocasionalmente rodeada por polímeros de glucano de aspecto húmedo en torno a la colonia³².

De acuerdo con el estudio realizado por Oliveira³³ las colonias de especies de *Streptococcus* presentan diferentes tamaños y formas, además de distintos tonos de azul lo que dificulta el proceso de identificación y diferenciación de estas especies en el agar MS que presenta un color azul marino.

En una investigación llevada a cabo por Zeng et al.³⁵, se señala que algunas bacterias presentan una apariencia similar a la de *S. mutans* en el medio de cultivo MSB. Por ejemplo, *S. sobrinus*, *S. anginosus* y *Phytobacter*. Sin una observación y diferenciación adecuadas, estas colonias podrían ser erróneamente identificadas como *S. mutans*, lo que podría resultar en una sobreestimación de la presencia de este microorganismo en estudios clínicos.

Las colonias en agar MS y MSB aparecen elevadas, convexas, onduladas, opacas, de color azul oscuro, con márgenes irregulares, superficie granular, más o menos adheridas, y cuando producen polisacáridos extracelulares aparece una burbuja de color brillante rodeándolas. Por otra parte, las colonias en agar con tripticasa, extracto de levadura, cisteína, sacarosa y bacitracina TYCSB pueden variar mucho y a menudo tienen dificultad de reconocimiento^{38,39}.

Saravia et al.³⁶ destacan que en estudios previos se compararon medios de cultivo selectivos para *S. mutans*, encontrando que el medio SB-20 M permitía contar un mayor número de colonias y era más efectivo en la identificación morfológica, especialmente de *S. sobrinus*, en comparación con el medio MSB. A pesar de que el medio MSB ha sido ampliamente utilizado tanto en investigación como en la clínica, los resultados sugieren que el medio SB-20 M puede ser más confiable.

El medio SB-20, y particularmente el SB-20M, se formula fácil y económicamente en comparación con otros medios selectivos. Además, ambos se pueden almacenar a temperatura ambiente hasta por 3 meses sin cambios notables de selectividad, siempre que se agreguen bacitracina y azúcar de caña granulado grueso poco antes de su uso³⁶.

Entre los componentes que tiene el agar SB-20M se encuentran: bactocasitona (15,0 g); extracto de levadura (5,0 g); L- cisteína (0,2 g); sulfito de sodio (0,1 g); acetato de sodio (20,0 g); azúcar de caña granulada gruesa (200,0 g); agar (15,0 g); agua destilada (qsp); y bacitracina hasta una concentración final de 0,2 U/ml de agar³⁶.

Por otra parte, el agar mutans sanguis (MSA), se recomienda para diferenciar entre *S. mutans* y *S. sanguis*. El medio contiene hidrolizado enzimático de caseína, extracto de levadura y L- cistina, que proporcionan nitrógeno, vitaminas y minerales necesarios para apoyar el crecimiento bacteriano. Además, el sulfito de sodio, acetato de sodio, fosfato disódico y bicarbonato de sodio actúan como fuentes de iones que simulan el metabolismo bacteriano. El MSA también contiene sacarosa, que permite que algunas especies de estreptococos produzcan colonias características mediante la formación de polisacáridos extracelulares a partir de este sustrato⁴⁰.

Las colonias de *S. sanguinis* en agar MSA se describen como lisas o ásperas, duras y de consistencia gomosa, ya sea gris, blanca o incolora, que se adhieren fuertemente al medio de agar, lo que las hace difíciles de eliminar con un asa de inoculación y se pueden diferenciar de las colonias de *S. mutans* que son irregular, áspero, de color blanco o amarillo, que se asemeja al vidrio esmerilado granular y se puede quitar o separar fácilmente del medio de agar³⁷.

Deepika ³⁷ también menciona que el antagonismo entre *S. mutans* y *S. sanguinis* a nivel biológico es ampliamente reconocido. Varios estudios han demostrado que una colonización más temprana y niveles más altos de *S. sanguinis* en la cavidad bucal se relacionan significativamente con un retraso en la colonización de *S. mutans* en las superficies dentales. Por otro lado, un aumento en los niveles de *S. mutans* en la cavidad bucal se asocia con una disminución de los niveles de *S. sanguinis*.

Tabla 2. Perfil bioquímico de *S. mutans*

Prueba	Resultados	Autores
Fermentación de carbohidratos	Positiva	Gamboa, 2016 ⁴¹
Hidrólisis de la esculina en presencia y ausencia de bilis	Hidrólisis negativa de la esculina en la presencia de bilis e hidrólisis positiva de la esculina en ausencia de bilis	
Ureasa	Negativa	
Hidrólisis de la arginina	Negativa	
Resistencia a la bacitracina	Resistencia a 2 U de bacitracina	
Voges Parker	Positivo	Heine, 2019 ⁴²

Análisis

En la tabla 2 se presenta el perfil bioquímico de *S. mutans*, el cual es útil para diferenciarlo de otras especies de *Streptococcus*.

Discusión

La identificación del perfil bioquímico de un microorganismo permite determinar su género y especie mediante la observación de distintas características, como la presencia o ausencia de componentes químicos específicos, que son propias de las especies microbianas. En el caso de *S. mutans*, implica la caracterización de sus metabolitos, enzimas y productos de secreción, los cuales pueden influir en su capacidad para colonizar y dañar el esmalte dental⁴¹.

La fermentación de carbohidratos se utiliza para detectar la capacidad de aislados bacterianos para utilizar diferentes fuentes de carbono (manitol, sorbitol y rafinosa) como única fuente de carbono y energía. *S. mutans*, se caracteriza ´por no hidrolizar el almidón y fermenta inulina, rafinosa, manitol y sorbitol ^{32,33}.

Esta prueba de fermentación se realiza inoculando tubos de ensayo que contengan cada fuente de carbono (3%) con el aislado bacteriano. Luego todos los tubos se incuban a 37 °C durante 24 h. bajo condiciones anaeróbicas. El cambio de color del indicador de rojo a amarillo indica un resultado positivo³³.

Según Al-Joda et al⁴³, indica que la prueba de agar bilis esculina, se utiliza para identificar los microorganismos que hidrolizan este sustrato. La bilis y el azida sódico sirven como medio selectivo, mientras que la esculina sirve como medio diferencial, la bilis inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas, mientras que el azida sódico inhibe el crecimiento de bacterias Gram negativas³². El cambio del color del agar de marrón oscuro a negro, indica una prueba positiva y en caso de una prueba negativa, el color permanecerá sin cambios.

La prueba de la urea se utiliza para identificar bacterias que pueden producir la enzima ureasa. Esta enzima pertenece a la superfamilia de amidohidrolasas y fosfodesterasas. La ureasa es una enzima que descompone la urea en NH₃ y CO₂. La creación de amoníaco eleva el pH del medio a alcalino y el color cambia a rosa a pH 8,1, lo que significa resultados positivos⁴³.

De acuerdo con Mulaw et al. ⁴⁴, en los ensayos de hidrólisis de arginina se busca probar la producción de amoníaco. Para llevar a cabo este ensayo, es necesario utilizar un reactivo de Nessler que reaccionará junto con tetrayodomercurato, lo que resultará en un cambio de color en el medio donde se añaden los reactivos. Si la reacción es positiva, el medio adquiere un color naranja brillante, mientras que, si es negativa, el color será amarillo.

En algunas investigaciones^{33,41,45} se indica que la susceptibilidad a la bacitracina es detectada por medio de la concentración inhibitoria mínima o través de la difusión de disco, si las bacterias son susceptibles, se formará una zona visible de inhibición alrededor del disco, que representa un área donde la concentración de antibióticos ha impedido el crecimiento bacteriano, en caso de que las bacterias sean resistentes no se observara la formación de un halo de inhibición como lo es en el caso de *S. mutans*

Al-Joda et al⁴³, describen a la prueba de Voges-Proskaur como una extensión de la prueba rojo de metilo, esta busca la detección de butileno como subproducto, a través de acetoina que es un producto intermedio, utilizando reactivos como alfa-naftol y 40 por ciento de KOH, permitiendo el cambio de color a rojo como positivo.

Tabla 3. Acciones patogénicas que impulsan y manifiestan la aparición de caries y enfermedades periodontales por *S. mutans*

Autor/año	Tipo de estudio	Población	Acciones patogénicas de <i>S. mutans</i>
Rezaei, 2022 ⁴⁶	Revisión bibliográfica	176	Formación de biopelículas, mecanismo dependiente de sacarosa, adhesión independiente de sacarosa, detección de quórum, acidogenicidad, tolerancia al ácido, metabolismo del azúcar, bacteriocinas.
Machado-Tan, 2021 ³⁰	Revisión bibliográfica	24	Acidogenicidad, aciduricidad, acidofilicidad, síntesis de glucanos y fructanos, producción de dextranasa, producción de mutacinas, síntesis de polisacáridos intracelulares (glucógeno) y capacidad adhesiva del <i>S. mutans</i> al esmalte del diente
Pairazamán-García, 2020 ⁴⁷	Experimental	8	Habilidad para adherirse y formar biofilm en la superficie del diente; metabolizar carbohidratos y generar ácidos (acidogenicidad); y sobrevivir en medios con bajo pH (aciduricidad) y acidofilicidad.
Lemos, 2019 ²⁵	Revisión bibliográfica	158	Capacidad de sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares, acidogenicidad, aciduricidad, formación de biofilm, sistemas de transducción de señales de dos componentes, detección de quórum, nucleótidos reguladores
Matsumoto, 2018 ⁴⁸	Revisión bibliográfica	99	Formación de biofilm, adherencia celular, proteínas de unión a glucano, antígeno proteico c, proteína fijadora de colágeno, detección de quorum, proteína de inmunidad a bacteriocinas, sistemas de transducción de señales de dos componentes (TCSTS).

Castañón, 2014 ⁴⁹	Experimental	12	Síntesis de polisacáridos extracelulares solubles e insolubles, síntesis de polisacáridos intracelulares, capacidad de formación de biofilm, aciduria y acidogénesis
------------------------------	--------------	----	--

Análisis

La tabla 3 resume la información recopilada de diversos artículos científicos sobre las acciones patogénicas de *S. mutans*, destacando su papel como el principal agente causante de caries dental. Entre sus mecanismos clave se encuentran su capacidad acidogénica, acidúrica y acidófila, su habilidad para sintetizar diversos carbohidratos, la formación de biofilms mediante la síntesis de polisacáridos extracelulares, la producción de proteínas de unión a glucanos, bacteriocinas, sistemas de transducción de señales de dos componentes, y la detección de quórum.

Discusión

Según Abdulhadi et al⁵⁰, la caries comienza como resultado de un defecto biológico bucal debido a factores ambientales como la ingesta de azúcares y otros, y se convierte en una condición patológica a través de una serie de reacciones químicas complejas a través de actividades microbianas asociadas a la formación biológica en la placa dental, lo que conduce a la eliminación de minerales de los tejidos calcificados de los dientes y a la descomposición de componentes orgánicos.

Krzysciak et al.⁵¹, señalan que las biopelículas presentes en la cavidad bucal son estructuras tridimensionales, formadas por cepas bacterianas ancladas a superficies sólidas como el esmalte dental, las raíces de los dientes o los implantes dentales. Están incrustados en una matriz de exopolisacaridos (EPS) en donde se han identificado más de 700 especies bacterianas diferentes que se incorporan a biopelículas.

Asimismo, Rezaei et al⁴⁶, indican que el biofilm es una estructura celular microbiana única, encerrada por una matriz extracelular, proteínas y ácidos nucleicos. La cual puede encerrar bacterias, suministrarles alimentos y nutrientes y provocar resistencia a sustancias antimicrobianas, ataques del huésped, estrés y fuerza. Además, puede tolerar ambientes ácidos, dañando el esmalte dental y provocando caries.

Lemos et al²⁵, recalcan que *S. mutans* vive principalmente en biopelículas en las superficies de los dientes y produce hasta tres GTF (glucosiltransferasas), GtfB, -C y -D, que utilizan el

resto de glucosa de la sacarosa como sustrato para sintetizar polímeros de glucosa de glucanos. Luego los glucanos median la adherencia firme de sus células a las superficies de los dientes⁴⁸.

En presencia de sacarosa, las glucosiltransferasas (GTF), GTFB, GTFC y GTFD producen glucanos solubles o insolubles en agua. La fructosiltransferasa (FTF) cataliza la producción de fructano a partir de sacarosa. Además, se ha demostrado que los polímeros de fructano se utilizan principalmente para almacenar nutrientes extracelulares que *S. mutans* pueden utilizar en tiempos de pobreza alimentaria⁴⁶.

Ren et al⁵², reportan que la GtfB, sintetiza principalmente glucanos insolubles con enlaces glicosídicos α (1-3). La GtfC, sintetiza una mezcla de glucanos solubles e insolubles. Y la GtfD, sintetiza glucanos predominantemente solubles con enlaces α (1-6). GtfB y GtfC se han asociado con la adherencia microbiana inicial y la estabilidad estructural de la matriz extracelular, y también se ha demostrado que son esenciales para la virulencia de *S. mutans* en un modelo de caries en rata. En particular, se ha demostrado que GtfC posee la mayor afinidad por la superficie de hidroxiapatita, seguido de GtfB y luego GtfD.

La unión de *S. mutans* a los glucanos formados in situ está mediada por la presencia de enzimas GTF asociadas a células y proteínas de unión a glucanos no GTF (Gbps). Este organismo bacteriano produce al menos 4 proteínas de unión a glucano (Gbps); GbpA, GbpB, GbpC y GbpD, que presumiblemente promueven su adhesión⁴⁸.

Matsumoto et al.⁴⁸, mencionan que GbpA, la primera proteína de unión a glucano designada contiene repeticiones carboxilo terminales similares al dominio de unión a glucano de las enzimas GTF. Esta proteína participa en la adherencia celular a las superficies de los dientes y se ha demostrado que contribuye a la cariogenicidad de *S. mutans* tanto in vitro como in vivo.

La proteína de superficie celular antígeno c (PAC) es una de las principales proteínas de superficie de *S. mutans* y se conoce con otros nombres, incluidos SpaP, antígeno I/II y B, P1 y MSL-1. Se sabe que se correlaciona con la virulencia del organismo para el desarrollo de

caries dental y participa en la adherencia bacteriana a los dientes mediante la interacción con la película salival, lo que se denomina adhesión independiente de sacaros⁴⁸.

También se ha identificado una proteína fijadora de colágeno (Cnm) sobre todo en los serotipos f y k y que posee actividad de unión al colágeno tipo I, un componente orgánico importante de la dentina, que se considera ventajoso para unirse a la dentina expuesta. La Cnm participa en la adherencia y la invasión de las células endoteliales de las arterias coronarias humanas , lo que indica sus posibles contribuciones a las infecciones y patologías cardiovasculares⁴⁸.

Según Klein et al.⁵³, refieren que paralelamente, *S. mutans* también libera Edna (ADN extracelular) y los ácidos lipoteicoicos (LTA), que pueden contribuir al desarrollo de la matriz. El ADNe mejora la síntesis de EPS (glucano) localmente, aumentando la adhesión de *S. mutans* a las superficies recubiertas de saliva y el ensamblaje de biopelículas altamente cohesivas.

Los LTA también pueden ser relevantes para el ensamblaje de matrices y la formación de biopelículas. Este componente en *S. mutans* es abundante en la película e induce la síntesis de glucanos insolubles y pueden mejorar la unión bacteriana a las superficies de los dientes y afectar la composición de la matriz, particularmente cuando hay sacarosa y almidón disponibles⁵³.

S. mutans es capaz de generar productos finales ácidos (acidogenicidad), que no solo es el factor causante directo de la desmineralización de las superficies de los dientes, sino también un determinante ambiental que puede afectar la flora microbiana relacionada con la caries durante el proceso cariogénico⁵⁴.

Lemos et al.²⁵, señalan que esta bacteria genera la llamada respuesta de tolerancia ácida, un robusto mecanismo de adaptación transcripcional y fisiológica que abarca la inducción de vías que contribuyen a la amortiguación del citoplasma y cambios en la composición de ácidos grasos de la membrana, protegiendo en última instancia la maquinaria celular. del daño ácido y contribuyendo a la supervivencia de las bacterias durante el estrés.

Este microorganismo puede sobrevivir y crecer en un ambiente ácido debido a sus diversos genes. El gen *atpD* en esta bacteria codifica la F1F0-ATPasa una bomba de protones que descarga H⁺ desde el interior de la bacteria hacia el exterior, para superar el estrés ácido y mantener la tolerancia al ácido⁵⁵.

Además, la F1F0-ATPasa tiene otra función como ATP sintasa. El interior de las células bacterianas mantiene un pH neutro, pero cuando el pH es bajo fuera de la célula, se forma un gradiente de protones en el límite de la membrana celular. El gradiente de protones provoca una fuerza motriz en la que H⁺ intenta entrar desde el exterior de la célula⁵⁵.

Rainey et al.⁵⁶, señalan que el pH ácido puede convertirse en una señal detectada por algunas bacterias, incluida *S. mutans*, para inducir la expresión genética controlada por sistemas reguladores bacterianos de dos componentes. Los cambios en este patrón de expresión genética pueden conducir a la secreción activada de vesículas de la membrana externa y ADN.

Los sistemas de transducción de señales de dos componentes (TCCTS) son un mecanismo utilizado por la bacteria para detectar y responder a cambios en su entorno. Consiste en dos componentes principales: un sensor de señal en la membrana celular y un regulador de respuesta en el citoplasma. En el caso del *S. mutans*, este sistema puede estar involucrado en la respuesta a la disponibilidad de azúcares, lo que podría influir en su capacidad para producir ácido y formar placas dentales⁵⁷.

Estos sistemas desempeñan funciones importantes en la adaptación, supervivencia y virulencia de las bacterias al detectar cambios en el medio ambiente y alterar la expresión de conjuntos específicos de genes para generar respuestas coordinadas a los estímulos ambientales²⁵.

Los TCCTS, envían una señal mediante fosfotransferencia entre histidina sensor quinasa y sus reguladores de respuesta afines, lo que provoca que los reguladores de respuesta se dimericen y se unan a motivos de ADN conservados, lo que en última instancia ajusta funciones celulares como la formación de biopelículas, la tolerancia al estrés y la absorción de nutrientes²⁵.

Por otro lado, es importante destacar que los sistemas de detección de Quorum sensing (QS) son redes de comunicación que permiten a los microbios detectar y responder a condiciones ambientales como la disponibilidad de nutrientes y la densidad de población, porque las moléculas de señalización se acumulan naturalmente junto con la densidad bacteriana²⁵.

En las bacterias Gram positivas, el QS está coordinado por feromonas peptídicas, que sirven como moléculas de señalización extracelular que desencadenan cambios en la expresión genética y, en última instancia, la activación de una respuesta coordinada por parte de la población. Estos sistemas, en *S. mutans*, han evolucionado para regular la producción de bacteriocinas, que son antibióticos peptídicos utilizados en defensa contra otros microbios orales y en competencia (transformación natural)²⁵.

Resulta relevante señalar a las bacteriocinas, proteínas antibacterianas, producidas por varias bacterias para prevenir o inhibir el crecimiento de otras. *S. mutans*, por ejemplo, produce mutacina, elemento activo contra bacterias grampositivas no estreptocócicas y otras especies de estreptococos. La producción de esta sustancia ayuda a esta bacteria a colonizar y establecerse en la cavidad bucal⁴⁶.

Tabla 4. Diferentes métodos de diagnóstico microbiológico para *S. mutans*.

Autor / años	Muestra	Genero	Edad	Medidas clínicas	Método de diagnostico
Hamalaw, 2021 ⁵⁸	89	44 varones 45 mujeres	7-12 años	Asignados según la presencia de caries altas o bajas: <ul style="list-style-type: none"> • 44 niños presentes en el estudio fueron asignados al grupo con caries alta • mientras que 45 niños asignados al grupo con caries baja 	Análisis microbiológico de saliva
Salh, 2021 ⁵⁹	80	No especifica	No especifica	Recolección de pacientes con diferentes caries dentales (fosa, fisura y raíces dentales)	Identificación morfológica, fenotípica y bioquímica
Gliosca, 2019 ⁶⁰	154	Ambos sexos	Mayores a 21 años	Asignados por grupos donde: <ul style="list-style-type: none"> • 23 pacientes sin lesiones cariosas • 131 pacientes con lesiones cariosas 	-Ensayo de adherencia para la detección de <i>S. mutans</i> -Identificación fenotípica y recuento.
Rodriguez, 2017 ⁶¹	21	Ambos sexos	2 - 7 años	Asignados según la presencia o ausencia de caries: <ul style="list-style-type: none"> • 12 in caries dentales • 9 con caries dental 	Análisis molecular
Saravia, 2020 ⁶²	266	Ambos sexos	18 - 25 año	Se instruyó a los pacientes a no utilizar agentes antimicrobianos durante un período de 7 días antes de la recolección de saliva	Identificación mediante espectrofotometría.

Análisis

En la tabla 4 se presenta algunos de los principales métodos de diagnósticos usados en el área del laboratorio clínico para identificar *S. mutans*, estos varían desde métodos fenotípicos, bioquímicos y moleculares; permitiendo establecer una comparativa y resaltar sus ventajas y desventajas al momento de ser aplicadas.

Discusión

En un estudio microbiológico de la saliva realizado por Hamalaw et al.⁵⁸, se destaca su papel fundamental en el desarrollo de las caries dentales y las enfermedades periodontales. Además, sugieren que identificar un perfil salival que muestre la interacción y los efectos de las variables en la cavidad oral podría ser útil para evaluar y determinar la enfermedad. Algunos de los análisis propuestos incluyen la medición de la hidratación, viscosidad y pH de la saliva en reposo, así como su capacidad amortiguadora.

También es importante considerar características independientes, como el índice de caries clasificado en grupos de baja o alta según los criterios de la OMS, así como la higiene bucal evaluada mediante el índice de placa e índice gingival. Esta investigación ha demostrado que el aumento de la viscosidad salival aumenta la probabilidad de caries. Además, la disminución del pH de la saliva puede incrementar la desmineralización dental y la progresión de la caries dental. La detección de *S. mutans* en la saliva puede ser útil para evaluar el riesgo de caries dental⁵⁸.

En otra investigación realizada por Salh et al.⁵⁸ sobre las características morfológicas y bioquímicas de *S. mutans*, se informa que tras obtener aislados del microorganismo después de la incubación a 37°C en agar MS y tinción de Gram⁶³, se observaron cocos grampositivos dispuestos en pares o cadenas cortas, que no forman esporas y no son móviles. Posteriormente, se realizaron tres pruebas para determinar sus características bioquímicas. Primero, se evaluó la capacidad de producir la enzima catalasa, que convierte el peróxido de hidrógeno en oxígeno. Luego, se evaluó la capacidad de producir hemólisis, y, por último, se evaluó la utilización de diferentes fuentes de carbono (manitol, sorbitol y rafinosa) como única fuente de energía

Gliosca (2019)⁶⁰ realizó un ensayo de adherencia para detectar *S. mutans* en muestras de saliva no estimulada, utilizando una variante del agar MS con sacarosa al 20%. Este medio mostró recuentos consistentes con los valores de referencia para el crecimiento, alrededor de 1×10^3 UFC/mL de saliva. Este medio de cultivo permite una mayor especificidad en el diagnóstico, ya que favorece la producción de exopolisacáridos por parte de *S. mutans*, lo que resulta en la formación de colonias adherentes e insolubles. En comparación con otros métodos, la sensibilidad de este método de diagnóstico fue del 78.63%, mientras que técnicas como el cultivo de MSB (Mitis Salivarius Bacitracin) apenas alcanzaron el 31%.³⁶

En un estudio molecular realizado por Rodríguez et al.⁶¹ sobre la diversidad genotípica de *S. mutans* asociada a los factores de riesgo de caries en niños, se encontró una vinculación entre ambos. Se observó que las distintas variantes genéticas pueden tener un potencial cariogénico diferente. Aunque esta bacteria se encuentra en individuos con alta, media y baja prevalencia de caries dental, en el grupo de niños sin caries solo se encontró un genotipo de *S. mutans*, mientras que en los niños con caries se encontraron dos o más, lo que demuestra una asociación positiva entre la caries dental y el número de genotipos encontrados.

Por otro lado, es importante mencionar la identificación proteómica utilizando la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF. En su estudio, Saravia et al.⁶² identificaron *S. mutans* mediante este método, que consiste en ionizar la muestra con un láser y llevarla hasta un detector. La muestra es capturada y expresada como picos, los cuales son analizados por un software especializado que genera automáticamente un espectro. Este se compara con los picos de especies de referencia almacenados en una base de datos para su identificación.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

- *S. mutans* es una bacteria que puede ser aislada en medios de cultivo selectivos como el agar MS, agar MSB, agar SB-20M y agar MSA. Actualmente, el medio más utilizado es el agar MS. Sin embargo, según los datos recolectados durante esta investigación, se encontró que el agar SB-20M permite el recuento de un mayor número de colonias y es más efectivo en la identificación morfológica. Además, su formulación es fácil y económica en comparación con otros medios. Las colonias en el agar SB-20M son grandes, con una superficie granular y transparente, similar al vidrio esmerilado, y pueden tener o no una gota de polisacárido extracelular. Para corroborar que las colonias observadas corresponden a *S. mutans*, se realiza la identificación fenotípica, que incluye pruebas como la fermentación de carbohidratos, la hidrólisis de la esculina en presencia y ausencia de bilis, la prueba de ureasa, la hidrólisis de la arginina y la resistencia a la bacitracina.

- *S. mutans* cuenta con varios factores de virulencia que le ofrecen una ventaja competitiva sobre otras bacterias. Su capacidad acidogénica le permite fermentar una variedad de carbohidratos, produciendo ácidos orgánicos, especialmente ácido láctico, lo que reduce el pH bucal y dificulta la supervivencia de otras especies bacterianas en la placa dental. Además, esta bacteria puede formar biopelículas gracias a la producción de glucanos, lo que le permite adherirse a la superficie del esmalte y a otras células bacterianas. Estos factores, junto con la capacidad de producir proteínas de unión a la superficie, son los principales mecanismos de patogenicidad que hacen que este microorganismo sea el principal agente causante de caries dental. Además, se han descubierto nuevos mecanismos, como el sistema de traducción de señales de dos componentes, que también podrían estar involucrados en su patogenicidad.

- Los métodos utilizados para diagnosticar *S. mutans* varían desde enfoques microbiológicos y fenotípicos hasta técnicas moleculares genéticas. En cuanto a estas últimas, si bien destacan por su sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de las caries, es importante considerar su costo y accesibilidad. A pesar de la implementación de sistemas automatizados o semiautomatizados, el cultivo en agar

sigue siendo considerado el estándar de oro. Este método permite realizar recuentos bacterianos para establecer proporciones relativas mediante técnicas cuantitativas en medios no selectivos

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bibliografía

1. Romero M. Azúcar y caries dental. *Odontol Pediatr* [Internet]. 2017 [citado el 2 de abril de 2024];1(18):4–11. Disponible en: <https://op.spo.com.pe/index.php/odontologiapediatrica/article/view/19/21>
2. Viteri-García A, Parise-Vasco J, Cabrera-Dávila M, Zambrano-Bonilla M, Ordonez-Romero I, Maridueña-León M, et al. Prevalence and incidence of dental caries associated with the effect of tooth brushing and fluoride varnishing in scholars at Galapagos Islands, Ecuador: Protocol of the EESO-Gal study. *Medwave* [Internet]. 2020;20(06): e7974–e7974. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5867/medwave.2020.06.7974>
3. Toledo Ortega C, Villavicencio Caparó E, Andrade Barahona C, Heras Chávez J, Cajo Chauca B. Negligencia al cuidado dental en adultos jóvenes de la parroquia Baños Cuenca - Ecuador, 2017. *Revista Científica Especialidades Odontológicas UG* [Internet]. 2021 [citado el 2 de abril de 2024];4(2):29–36. Disponible en: <https://revistas.ug.edu.ec/index.php/eoug/article/view/1236/1327>
4. Philip N, Suneja B, Walsh L. Beyond *Streptococcus mutans*: clinical implications of the evolving dental caries aetiological paradigms and its associated microbiome. *Br Dent J* [Internet]. 2018 [citado el 2 de abril de 2024];224(4):219–25. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/sj.bdj.2018.81>
5. Delgadillo Avila J, Campodónico Reátegui C, Gómez Meza D, Chacón Uscamaita P. Presencia de *Streptococcus Mutans* Genotipo C en niños y adolescentes peruanos con caries. *Odovtos - Int J Dent Sci* [Internet]. 2018 [citado el 2 de abril de 2024];20(3):105–13. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2215-34112018000300105
6. Paladines-Calle S, Villavicencio-Corral B, Motoche-Carrión M, Sarmiento-Ordóñez J. Serotipos prevalentes de *Streptococcus mutans* en América Latina. *Rev ADM* [Internet].

- 2023;80(4):214–9. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2023/od234f.pdf>
7. Carballo E, Falcón V, Patió M, Urdaneta S. Balance de estudios epidemiológicos de caries dental en países de Asia: Afganistán, Arabia Saudita, Armenia, Azerbaiyán, Bangladesh, Baréin [Internet]. [BOGOTA DC]: El Bosque; 2021 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unbosque.edu.co/server/api/core/bitstreams/8d6cec65-e64c-4ae6-b679-1260007838a3/content>
 8. World Health Organization. Oral health [Internet]. WHO | Regional Office for Africa. 2022 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <https://www.afro.who.int/health-topics/oral-health>
 9. Maebh F. WHO/Europe calls for urgent action on oral disease as highest rates globally are recorded in European Region [Internet]. Who.int. 2023 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/europe/news/item/20-04-2023-who-europe-calls-for-urgent-action-on-oral-disease-as-highest-rates-globally-are-recorded-in-european-region>
 10. Faller C, Robert V. An Update on Demineralization/ Remineralization. Dentalcare [Internet]. 2021 [citado el 2 de abril de 2024]; Disponible en: https://assets.ctfassets.net/u2qv1tdtdbbu/6k08YJRvFXDDNxIMvPe8fD/afc8500392bc74f3d480f54a51270509/ce73_1-29-21.pdf
 11. Ladera Castañeda MI, Medina Sotelo CG. Oral health in Latin America: A view from public policies. Salud Cienc Tecnol [Internet]. 2023; 3:340. Disponible en: <https://revista.saludcyt.ar/ojs/index.php/sct/article/view/340>
 12. Gómez Capote I, Hernández Roca CV, León Montano V, Camacho Suárez AM, Clausell Ruiz M. Caries dental en los primeros molares permanentes en escolares. Rev médica electrón [Internet]. 2015 [citado el 2 de abril de 2024];37(3):207–17. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1684-18242015000300003&script=sci_arttext&tlng=en

13. González Romero A, Guillén Ferraro M, Cruz Tenempaguay R, Martínez Durán E. Identificación y caracterización microbiológica del *Streptococcus mutans* en saliva de madre – hijo, Riobamba, Ecuador. *Anatomía Digital* [Internet]. 2023 [citado el 2 de abril de 2024];6(4.3):214–28. Disponible en: <https://cienciadigital.org/revistacienciadigital2/index.php/AnatomiaDigital/article/view/2802>
14. Sánchez C. Recursos actuales en el diagnóstico de caries. *medigraphic* [Internet]. 2018 [citado el 2 de abril de 2024];6(75):334–9. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2018/od186g.pdf>
15. Cedeño M, Murillo D, Fátima M. Caracterización de la microbiota oral en adolescentes de 15 años. *Especialidades Odontológicas UG* [Internet]. 2019 [citado el 2 de abril de 2024]; Disponible en: <https://revistas.ug.edu.ec/index.php/eoug/article/view/300/165>
16. Ojeda-Garcés J, Oviedo-García E, Salas L. *Streptococcus mutans* y caries dental. *CES Odontol* [Internet]. 2013 [citado el 2 de abril de 2024];26(1):44–56. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005
17. Cruz Quintana S, Díaz Sjostrom P, Arias Socarrás D, Mazón Baldeón G. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Rev cubana Estomatol* [Internet]. 2017 [citado el 2 de abril de 2024];54(1):84–99. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072017000100008
18. Barriga Angulo G, Sánchez Hernández E. Utilidad de las muestras de saliva en el diagnóstico por el laboratorio. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* [Internet]. 2015 [citado el 2 de abril de 2024];1(63):13–8. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2016/pt161b.pdf>

19. Leonor S. Manual de prácticas de laboratorio. Pruebas de identificación de factores de riesgo a caries [Internet]. Primera edición: 2016. Calzada Del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Del. Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México: Universidad Autónoma Metropolitana; 2016 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <https://www.casadelibrosabiertos.uam.mx/contenido/contenido/Libroelectronico/caries.pdf>
20. Urgelles-Rodriguez E, Legrá-López H, Ricardo-Chacón O. El pH salival como marcador biológico en pacientes diagnosticados con carcinoma epidermoide oral de Guantánamo. Rev inf cient [Internet]. 2022 [citado el 2 de abril de 2024];101(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-99332022000400003
21. Vargas A. Determinación del ph salival antes y después del consumo del desayuno escolar en escolares de la Institución Educativa Carlos Augusto Salaverry del Caserio de Otuccho- Cumba – 2018 [Internet]. [Chachapoyas – Perú]: Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; 2018 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/1423/Alex%20Belliny%20Vargas%20Garc%20C3%ADa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
22. Santos A, Cano I, Huéscar A, García M, Carrasco M. D, Sánchez J. Prevalencia de caries dental en escolares de educación infantil de una zona de salud con nivel socioeconómico bajo. Rev pediátr aten pri [Internet]. 2019 [citado el 2 de abril de 2024]; 21:47–59. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/pap/v21n82/1139-7632-pap-21-82-e47.pdf>
23. Brown C, Vladimir I. Fenotipos de Streptococcus Mutans en párvulos chilenos de bajo nivel socioeconómico, con y sin experiencia de caries [Internet]. Universidad de Chile; 2014 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/130156>

24. Morales Miranda L, Gómez Gonzáles W. Caries dental y sus consecuencias clínicas relacionadas al impacto en la calidad de vida de preescolares de una escuela estatal. *Rev Estomatol Hered* [Internet]. 2019 [citado el 2 de abril de 2024];29(1):17. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552019000100003
25. Lemos J, Palmer S, Zeng L, Wen Z, Kajfasz J, Freires I, et al. The biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2019;7(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0051-2018>
26. Plazas L. Recuento e identificación de *Streptococcus mutans* de saliva en niños con caries dental: seguimiento a 3 y 6 meses después de un proceso educativo [Internet]. [Facultad de Ciencias Básicas]: Pontificia Universidad Javeriana; 2015 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/16672/PlazasCristanchoLeandroAugusto2015%20%282%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
27. Fonseca J. Transmisión horizontal de genotipos de *Streptococcus mutans* entre párvulos chilenos de 3 a 4 años de edad, con diferentes experiencias de caries, pertenecientes al mismo grupo curso [Internet]. [Departamento de Patología. Área de Microbiología]: Universidad de Chile; 2016 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/142532/Transmisi%C3%B3n-horizontal-de-genotipos-de-Streptococcus-mutans.pdf?sequence=1>
28. Gomez K. Expresión de los genes de adhesión de *Streptococcus mutans* en la presencia de *Lactobacillus acidophilus* y glucosa [Internet]. [Facultad de Ciencias Biológicas]: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2016 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/13695/1/1080238060.pdf>
29. Vásquez Ibarra S, Lobos Gilabert O, Padilla Espinoza C. Presencia de genes de virulencia *gtfB* y *spaP* en *Streptococcus mutans* aislados desde saliva y su relación con el índice COPD y ceod. *Rev clín periodoncia implantol rehabil oral* [Internet]. 2014

[citado el 2 de abril de 2024];7(2):65–71. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-01072014000200004

30. Machado-Tan T, Reyes-Labarcena B. Streptococcus mutans, principal cariogénico de la cavidad bucal. Progaleno [Internet]. 2021 [citado el 2 de abril de 2024];4(3):209–21. Disponible en: <https://revprogaleno.sld.cu/index.php/progaleno/article/view/233/214>
31. Hernández M, Meléndez W, Sandoval R, Navarro V, Ibarra M. Niveles Streptococcus mutans y Lactobacillus spp. en saliva después del consumo de leche con xilitol en niños. oral [Internet]. 2016 [citado el 26 de abril de 2024];54(17):1370–3. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2016/ora1654e.pdf>
32. Gamboa Jaimes F. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del Streptococcus mutans: experiencias de investigación / Microbiological, Phenotypic, and Genotypic Characterization of Streptococcus mutans: Research Experiences. Univ Odontol [Internet]. 2015;33(71):76. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.11144/javeriana.uo33-71.icmf>
33. Salh A, Risan M, Jasim H. Biochemical characteristics and antibiotics susceptibility of streptococcus mutans isolates from dental caries in Baghdad city [Internet]. Disponible en: https://www.ijabbr.com/article_248084_c021d15faa64349fb577fa904a0e4b7b.pdf
34. Oliveira V, Oliveira M, De Eça E, De Carvalho L, Da Conceição A. Identificação de bactérias do gênero Streptococcus isoladas do biofilme dental e sua relação com aspectos socioculturais de pacientes odontológicos residentes em zona rural. Braz J Dev [Internet]. 2023;9(4):12601–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv9n4-005>
35. Zeng Y, Youssef M, Wang L, Alkhars N, Thomas M, Cacciato R, et al. Identification of non-Streptococcus mutans bacteria from predente infant saliva grown on mitis-salivarius-bacitracin agar. J Clin Pediatr Dent [Internet]. 2020 [citado el 2 de abril de 2024];44(1):28–34. Disponible en:

<https://meridian.allenpress.com/jcpd/article/44/1/28/433540/Identification-of-Non-Streptococcus-mutans>

36. Saravia M, Nelson-Filho P, Silva R, De Rossi A, Faria G, Silva L, et al. Recovery of mutans streptococci on MSB, SB-20 and SB-20M agar media. Arch Oral Biol [Internet]. 2013;58(3):311–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.10.010>
37. Sogi S, Patidar D, Singh V, Shinu P, Loomba A, Patidar D. Salivary levels of Streptococcus mutans and Streptococcus sanguinis in early childhood caries: An in vivo study. J Indian Soc Pedod Prev Dent [Internet]. 2018 [citado el 2 de abril de 2024];36(4):386. Disponible en: https://journals.lww.com/jped/fulltext/2018/36040/salivary_levels_of_streptococcus_mutans_and.12.aspx
38. López G. Análisis molecular de ADN del *Streptococcus mutans* en transmisión vertical, binomios madre - hijo, en niños de 0 - 48 meses [Internet]. [Área de la salud humana odontología]: Universidad Nacional de Loja; 2016 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17653/1/TESIS_ANALISIS%20MOLECULAR%20DE%20ADN%20DE%20S.%20MUTANS%20EN%20BINOMIOS%20MADRE-HIJOVALE.pdf
39. González S, Macao G, Benítez P. Análisis de Transmisibilidad Bacteriana a través del conteo de UFC de *S. Mutans* en Binomios Madre-Niño. ODONTOLOGÍA [Internet]. 2017 [citado el 2 de abril de 2024];19(1):98–109. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6130268>
40. HiMedia Laboratories. Mutans-Sanguis Agar [Internet]. exodocientifica.com.br. 2011 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <https://exodocientifica.com.br/technical-data/M977.pdf>

41. Gamboa F, García D, Lamby C, Sarralde A. Biotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *S. mutans* en niños con y sin caries dental. *Rev Colomb Cienc Quím Farm* [Internet]. 2016;45(2):288. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n2.59944>
42. Heine A, García S, Barberis C, Vay C, E. Mollerach M, Bonofiglio L, et al. Identificación y sensibilidad a los antimicrobianos de aislados de estreptococos del grupo viridans provenientes de pacientes internados en un hospital universitario de la ciudad de Buenos Aires. *Rev Argent Microbiol* [Internet]. 2019;51(1):26–31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2018.03.004>
43. AL-Joda B, Jasim A. Biochemical testing revision for identification several kinds of bacteria. *Journal of University of Babylon for Pure and applied science (JUBPAS)* [Internet]. 2021 [citado el 2 de abril de 2024];29(2):168–76. Disponible en: <https://www.iasj.net/iasj/download/97f9d246c6c0e234>
44. Mulaw G, Sisay Tessema T, Muleta D, Tesfaye A. *in vitro* evaluation of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from some traditionally fermented Ethiopian food products. *Int J Microbiol* [Internet]. 2019 [citado el 2 de abril de 2024]; 2019:1–11. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2019/7179514/>
45. Vumie. Bacitracin susceptibility test [Internet]. Virtual Microbiology Lab Simulator Software - VUMIE is the flight simulator of microbiology labs, complete with online instruction and grading. VUMIE; 2022 [citado el 2 de abril de 2024]. Disponible en: <https://vumicro.com/docs/bacitracin-susceptibility-test/>
46. Rezaei T, Mehramouz B, Gholizadeh P, Yousefi L, Ganbarov K, Ghotaslou R, et al. Factors associated with *Streptococcus mutans* pathogenicity in the oral cavity. *Biointerface Res Appl Chem* [Internet]. 2022;13(4):368. Disponible en: <https://biointerfaceresearch.com/wp-content/uploads/2022/10/BRIAC134.368.pdf>
47. Pairazamán-García J, Ríos-Caro T. In vitro inhibitory effect of *Stevia Rebaudiana* ethanolic extract on the cariogenic virulence factors of *Streptococcus mutans* ATCC

25175. Agroindustrial Sci [Internet]. 2020;10(1):95–102. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17268/agroind.sci.2020.01.13>
48. Matsumoto-Nakano M. Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Jpn Dent Sci Rev* [Internet]. 2018;54(1):22–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdsr.2017.08.002>
49. Castañón I. Fenotipos de *Streptococcus Mutans* en párvulos chilenos de bajo nivel socioeconómico, con y sin experiencia de caries [Internet]. [Facultad de Odontología]: Universidad de Chile; 2014. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/130156>
50. Abdulhadi T, Nijris O. Investigate the spread of *Streptococcus mutans* for patients with tooth decay in Samarra city. *Samarra Journal of Pure and Applied Science* [Internet]. 2023;4(5):89–97. Disponible en: <https://www.iasj.net/iasj/download/fb2fe7dc3fa68afa>
51. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2014;33(4):499–515. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-013-1993-7>
52. Ren Z, Cui T, Zeng J, Chen L, Zhang W, Xu X, et al. Molecule targeting glucosyltransferase inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation and virulence. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2016;60(1):126–35. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00919-15>
53. Klein M, Hwang G, Santos P, Campanella OH, Koo H. *Streptococcus mutans*-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2015;5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2015.00010>
54. Guo L, McLean J, Lux R, He X, Shi W. The well-coordinated linkage between acidogenicity and aciduricity via insoluble glucans on the surface of *Streptococcus*

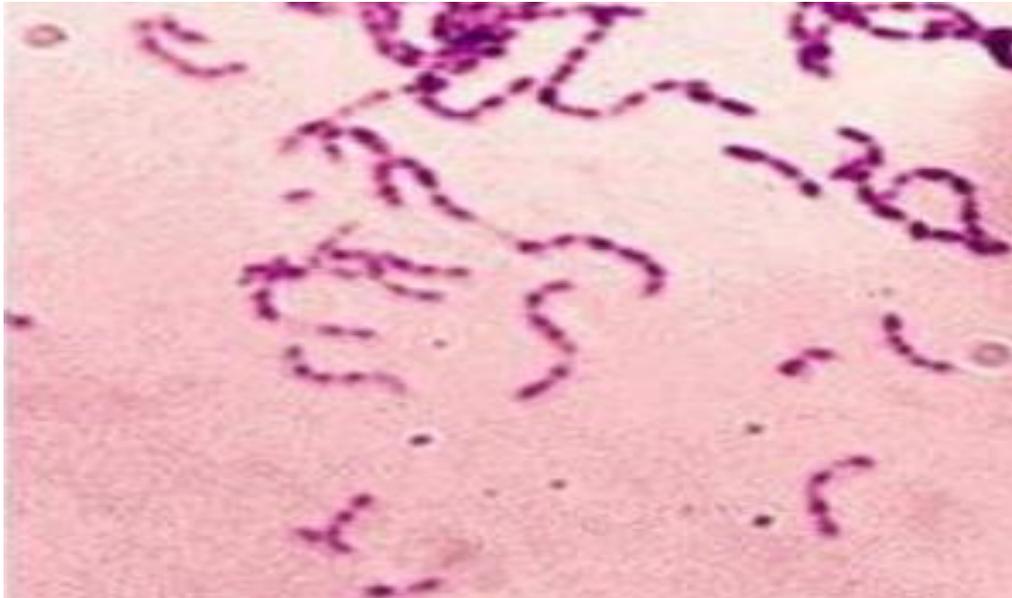
- mutans. *Sci Rep* [Internet]. 2015 [citado el 2 de abril de 2024];5(1):1–11. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/srep18015>
55. Yong-Ouk Y. Virulence genes of *Streptococcus mutans* and dental caries. *International Journal of Oral Biology* [Internet]. 2019 [citado el 2 de abril de 2024];31–6. Disponible en: [https://pesquisa.bvsalud.org/gim/resource/fr/wpr-764041#:~:text=Virulence%20genes%20in%20S.,%2C%20and%20gbpC\)%20and%20spaP](https://pesquisa.bvsalud.org/gim/resource/fr/wpr-764041#:~:text=Virulence%20genes%20in%20S.,%2C%20and%20gbpC)%20and%20spaP).
56. Rainey K, Michalek S, Wen Z, Wu H. Glycosyltransferase-mediated biofilm matrix dynamics and virulence of *Streptococcus mutans*. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2019;85(5). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aem.02247-18>
57. Terán J, Rodríguez C, Georgellis D, Álvarez A. Autophosphorylation and transphosphorylation mechanisms in bacterial two component systems. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas* [Internet]. 2019 [citado el 12 de abril de 2024];22. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/432/43265210019/html/>
58. Hamalaw S, Kareem F, Gul S. Association of dental and gingival health status with level of salivary characteristics and *Streptococcus mutans* in children. *J Dent Sci* [Internet]. 2021;16(2):744–50. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jds.2020.08.006>
59. Salh A, Mohsan H, Hameed M. Biochemical Characteristics and Antibiotics Susceptibility of *Streptococcus Mutans* Isolates from Dental Caries in Baghdad City. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research* [Internet]. 2022 [citado el 2 de abril de 2024];1(10):32–43. Disponible en: http://www.ijabbr.com/article_248084.html
60. Gliosca L, Stoppani N, Lamas N, Balsamo C, Salgado P, Argentieri Á, et al. Validación del Test de adherencia para el recuento de estreptococos del grupo mutans en muestras de saliva. *Acta Odontol Latinoam* [Internet]. 2019 [citado el 2 de abril de 2024];32(2):97–102. Disponible en:

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-48342019000200008&lang=es

61. Rodrigues I, Poli R, Maciel S. Genotypic diversity of *Streptococcus mutans* associated with the risk factors for dental caries in children. 2017 [citado el 2 de abril de 2024]; Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/3072/307259135017/>
62. Saravia M, da Silva L, da Silva R, Cudmani N, Tineo S, Hillen N, et al. Morphological identification of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in SB-20M culture medium has efficiency comparable to proteomic identification by the MALDI-TOF mass spectrometry technique. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2020;110(104595):104595. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.104595>
63. Sultana S, Parvin R, Parvin M, Islam M, Bari A, Chowdhury E. Prevalence of methicillin and β -Lactamase resistant pathogens associated with oral and periodontal disease of children in Mymensingh, Bangladesh. *Pathogens* [Internet]. 2022 [citado el 12 de abril de 2024];11(8):890. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens11080890>

ANEXOS

Anexo 1: Identificación y visualización de la morfología de *S mutans* a través de la tinción de gram.



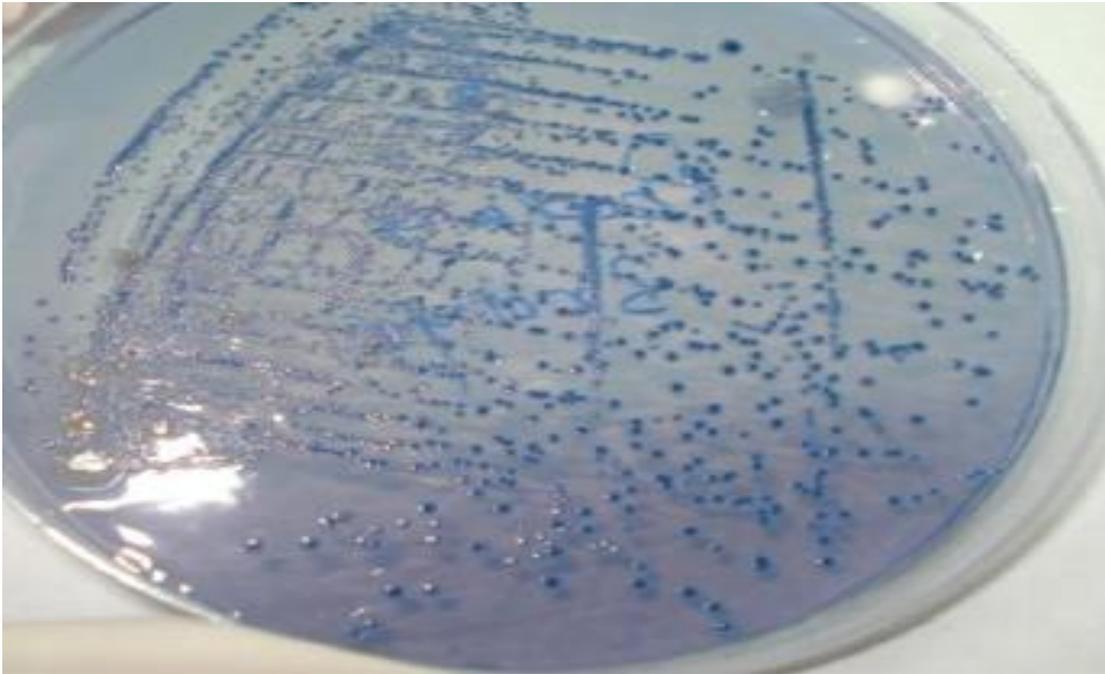
Fuente: <https://www.ijmronline.org/journal-article-file/632>

Anexo 2: Recolección de muestra no estimulada de saliva en reposo escupiendo (spitting)



Fuente: <https://acortar.link/fB3NV7>

Anexo 3: Características del *S. mutans* en cultivo agar MS después de 16 horas de incubación a 37°C en anaerobiosis



Fuente: https://www.ijabbr.com/article_248084_c021d15faa64349fb577fa904a0e4b7b.pdf