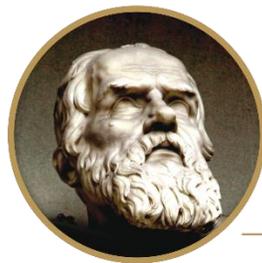


UNIVERSIDAD GALILEO
FACISA
LICENCIATURA EN QUÍMICA BIOLÓGICA

“Correlación en la concentración de *Streptococcus mutans* y la severidad de caries en pacientes de la clínica dental Sonrisas por Siempre, zona 18, Ciudad de Guatemala, durante enero a mayo de 2022”



Galileo
UNIVERSIDAD
La Revolución en la Educación

TESIS

PRESENTADA A LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

POR

**PATRICIA ALEJANDRA IBARRA GARZO
TANIA CAROLINA SOSA LÓPEZ
DEBORA ESMERALDA VELÁSQUEZ HURTARTE**

PREVIO A CONFERÍRSE EL TÍTULO DE

QUÍMICO BIÓLOGO

EN EL GRADO ACADÉMICO DE

LICENCIATURA

GUATEMALA, AGOSTO 2022



Guatemala, 19 de Agosto 2021

Doctora
Vilma Chávez de Pop
Decana
Facultad de Ciencias de la Salud
Presente.

Señora Decana, Dra. Vilma Chávez de Pop:

Por este medio nosotras: **Patricia Alejandra Ibarra Garzo, Tania Carolina Sosa López y Debora Esmeralda Velásquez Hurtarte** nos dirigimos a usted como estudiantes de la carrera de Licenciatura en Química Biológica, para solicitar su aprobación del punto de tesis:

“Correlación en la concentración de Streptococcus mutans y la severidad de caries en pacientes de la clínica dental Sonrisas por Siempre, zona 18, Ciudad de Guatemala”

Agradeciendo su atención a la presente y en espera de una respuesta afirmativa, nos despedimos de usted.

Atentamente,

Patricia Alejandra Ibarra Garzo

Tania Carolina Sosa López

Debora Esmeralda Velásquez Hurtarte

Vo.Bo.



Guatemala, 16 de Agosto de 2022

Doctora:
Vilma Chávez de Pop
Decana
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Galileo

Estimada Dra. Chávez:

Tengo el gusto de informarle que he realizado la revisión de trabajo de tesis titulado: **“Correlación en la concentración de *Streptococcus mutans* y la severidad de caries en pacientes de la clínica dental “Sonrisas por Siempre”, zona 18, Ciudad de Guatemala”** de las alumnas: **Patricia Alejandra Ibarra Garzo, Tania Carolina Sosa López y Debora Esmeralda Velásquez Hurtarte.**

Después de realizar la revisión del trabajo he considerado que cumple con todos los requisitos técnicos solicitados, por lo tanto, el autor y el asesor se hacen responsables del contenido y conclusiones de la misma.

Atentamente,


Licda. Carolina Arévalo
Química Bióloga
Colegiado 914
Carolina Arévalo, PhD
Asesora de Tesis

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	IX
JUSTIFICACIÓN.....	X
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	XI
HIPÓTESIS.....	XII
OBJETIVOS.....	XIII
MARCO TEÓRICO	1
1. <i>Streptococcus mutans</i>	1
1.1 Bacterias Relacionadas	1
1.2 Características morfológicas	2
1.3 Características bioquímicas	2
1.4 Hábitat	3
1.5 Identificación fenotípica.....	4
1.6 Factores de virulencia	6
2. Microbiota orofaríngea.....	10
2.1 Bacterias.....	11
3. Caries.....	13
3.1 Definición.....	13
3.2 Etiología.....	14
3.3 Factores de riesgo	15
3.4 Clasificación de caries	15
3.5 Bacterias cariogénicas	21
3.6 Complicaciones de las caries.....	23
3.7 Epidemiología de caries.....	27
3.8 Efecto inhibitorio de pastas dentales frente al <i>Streptococcus mutans</i>	29
MÉTODOS.....	30
Universo	30
Población	30
Tipo de investigación.....	30
Variables	30

Recursos.....	31
Toma de muestra salival.....	32
Estudio microbiológico.....	32
Método de conteo de colonias.....	33
Análisis estadístico de la información.....	33
CRONOGRAMA DE TRABAJO.....	34
RESULTADOS.....	35
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	41
CONCLUSIONES.....	43
RECOMENDACIONES.....	44
ANEXOS.....	45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura no 1 Matriz de EPS.....	9
Figura no 2 Formación de biofilm.....	9
Figura no 3 Clasificación de las lesiones cariosas por superficies anatómicas.....	17
Figura no 4 Clasificación de caries según la ADA.....	20
Figura no 5 Imágenes gráficas periodontales.....	25

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla no 1 Características de los miembros del grupo <i>Streptococcus mutans</i>	6
Tabla no. 2 media de UFC/ml de <i>Streptococcus mutans</i> según clasificación de caries.....	34
Tabla no. 3 recuento promedio de UFC/ml de <i>Streptococcus mutans</i> según grupo de edad y clasificación de caries.....	35
Tabla no. 4 recuento promedio de UFC/ml de <i>Streptococcus mutans</i> según sexo y clasificación de caries.....	36
Tabla no. 5 cantidad de pacientes según grupo de edad y clasificación de caries.....	37
Tabla no. 6 cantidad de pacientes según sexo y clasificación de caries.....	38
Tabla no. 7 recuentos de <i>Streptococcus mutans</i> menores y mayores según clasificación de caries.....	39

Tabla no. 8 bitácora de pacientes y recuentos por fecha de siembra.....	38
---	----

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro no 1 Factores de riesgo para desarrollo de caries dental.....	15
--	----

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica no. 1 media de UFC/ml de <i>Streptococcus mutans</i> según clasificación de caries.....	34
Gráfica no. 2 recuento promedio de UFC/ml de <i>Streptococcus mutans</i> según grupo de edad y clasificación de caries.....	35
Gráfica no. 3 recuento promedio de UFC/ml de <i>Streptococcus mutans</i> según sexo y clasificación de caries.....	36
Gráfica no. 4 cantidad de pacientes según grupo de edad y clasificación de caries.....	37
Gráfica no. 5 cantidad de pacientes según sexo y clasificación de caries.....	38
Gráfica no. 6 recuentos de <i>Streptococcus mutans</i> menores y mayores según clasificación de caries.....	39

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo no. 1 suspensión para elaboración de agar Mitis Salivarius.....	45
Anexo no. 2 elaboración de agar Mitis Salivarius.....	45
Anexo no. 3 agar Mitis Salivarius.....	46
Anexo no. 4 identificación de cajas de Petri por lote.....	46
Anexo no. 5 servido de agar en cajas de Petri.....	47
Anexo no. 6 materiales para siembra de muestras.....	47
Anexo no. 7 crecimiento de colonias a partir de muestra de saliva en agar Mitis Salivarius.....	48
Anexo no. 8 crecimiento de <i>S. mutans</i> en agar Manitol Sal a partir de muestra de saliva en agar Mitis Salivarius.....	49
Anexo no. 9 cocos en cadena Gram positivo.....	49
Anexo no. 10 ejemplo de consentimiento informado.....	50
Anexo no. 11 bitácora de pacientes y recuentos según fecha de siembra.....	51

LISTADO DE ABREVIATURAS

- a. UFC/ml: Unidades formadoras de colonias por mililitro
- b. S. mutans: Streptococcus mutans
- c. GTF: Enzima glucosiltransferasa
- d. FTF: Enzima fructosiltransferasa
- e. ATP: Adenosin trifosfato
- f. MSB: Mitis Salivarius
- g. TYCSB: Trypticase Yeast-extract Cystine Saccharose
- h. GTs: Glucosiltransferasa
- i. EPS: Polisácarido extracelular
- j. OMS: Organización Mundial de la Salud

- k. OPS: Organización Panamericana
- l. ADA: American Dental Association
- m. ADDA CCS: Clasificación de Caries
- n. ICDAS: International Caries Detection and Assessment System
- o. CPO-D: índice promedio de dientes cariados, perdidos y obturados
- p. LBS: Lactobacillus Selection Agar
- q. PO_4^{-3} : Fosfato
- r. CEO-D: Sumatoria de dientes primarios cariados, con indicación de extracción y obturados.
- s. CONASABU: Comisión Nacional de Salud bucal

AGRADECIMIENTOS

Durante el transcurso de mi vida he tenido presente que todo se lo debo a un ser supremo, que sin su guía y sabiduría no podría alcanzar cada uno de los logros, estoy infinitamente agradecida con Dios por haberme dado a unos padres maravillosos que sin su ayuda no estaría llegando tan lejos. Agradezco a mi familia por cada palabra de aliento, su amor, su compañía y su esfuerzo, también a mis hermanas: Emely, Natalie y Nicolle que durante este trayecto aportaron muchas cosas a mi vida.

Agradezco a los miembros profesionales que conforman la Universidad Galileo por compartir su conocimiento para poder enriquecer el nuestro, además de la Institución que nos permitió llevar a cabo nuestro estudio.

Alejandra

A mi familia, que jamás me mostró una gota de duda en que yo podía con todo lo que me proponía hacer. Aunque la mayoría de las veces no entendieran de lo que hablaba y me ponían atención cuando escribía en el pizarrón, aunque para ellos fueran sólo garabatos. Sus comentarios siempre fueron enfocados en que yo llegaría lejos y saben que esto no es el final.

A mis amigos, que siempre confiaron en mí y me mostraron su aprecio y apoyo en todo momento. A mis catedráticos, por retarme a superarme cada día más, siempre sabían que podía dar más.

Carolina

A mi padre por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye mi difunto Abuelo Álvaro, Abuela Raymunda, hermano, cuñada y sobrina. Me formaron con reglas y con algunas libertades, al final de cuentas me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos.

El amor el cariño y las grandes manifestaciones de afecto de mis compañeras de carrera universitaria son una gran bendición de Dios, que dan muestra de las buenas cosas que nos ofrece la vida.

Familia, amigos, y personales especiales en mi vida, no son nada más y nada menos que un solo conjunto: seres queridos que suponen benefactores de importancia inimaginable en mis circunstancias de humano. No podría sentirme más ameno con la confianza puesta sobre mi persona, especialmente cuando he contado con su mejor apoyo desde que siquiera tengo memoria.

Debora

AGRADECEMOS a la Universidad Galileo por ser nuestro centro de estudios por estos años, por brindarnos la oportunidad de aprender y superarnos día a día.

A nuestros catedráticos por darnos las herramientas necesarias para forjar nuestro carácter y poder desarrollarnos en la vida como unas profesionales.

A nuestra asesora de tesis por siempre apoyarnos y brindarnos su conocimiento durante el transcurso de este proyecto. Gracias por confiar en nuestro trabajo y nuestros conocimientos.

A las instituciones que nos permitieron llevar a cabo nuestro trabajo bajo su techo. Estamos agradecidas por su apoyo y su confianza.

Alejandra, Carolina y Debora

INTRODUCCIÓN

La etiología de las caries se debe a varios factores, entre ellos la presencia de bacterias en la boca capaces de establecerse en la cavidad bucal y provocar una desmineralización del esmalte. Varias de estas bacterias se pueden encontrar en concentraciones moderadas en la saliva, entre estas se puede destacar *Streptococcus mutans*. Se reconoce a este estreptococo como el agente causal de las caries en humanos, tanto en su establecimiento como en su progresión hasta una lesión que puede llegar a afectar a la dentina.

El diagnóstico de caries con apoyo en análisis microbiológico de la saliva, la pieza dental o placa dental no es un procedimiento estándar en la mayoría de clínicas odontológicas y se reserva para investigación. La evidencia presentada en varios trabajos de investigación y en el presente demuestra que el análisis microbiológico de la saliva puede resultar una herramienta útil para el pronóstico de tratamientos dentales y como indicador de la higiene dental del paciente.

Se realizó la comparación en la concentración de *S. mutans* en saliva de los pacientes que atendieron a la clínica Sonrisas Por Siempre entre los meses de enero a mayo de 2022. Las muestras de saliva fueron analizadas por cultivo en agar selectivo *Mitis Salivarius*, posteriormente se procedió a realizar un conteo de UFC/ml de cada uno de los pacientes, así como la identificación de la bacteria por métodos cualitativos y bioquímicos.

JUSTIFICACIÓN

El propósito es realizar un estudio en pacientes que acuden a asistencia médica de odontología, realizando la debida comparación sobre las concentraciones de *Streptococcus mutans* para identificando la clasificación de caries mediante indagación científica y técnicas adecuadas asociadas a la microbiología para reportar cada uno de los casos.

Dichos resultados logran sistematizarse previo a la toma directa de saliva y siembra en agar selectivo mitis salivarius, bajo el consentimiento por escrito de la persona que será el objeto de estudio de dicha investigación, para disminuir la probabilidad de adquirir caries dentales para así poder evitar infecciones que a largo plazo logren agravarse.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Falta de higienización bucal en pacientes guatemaltecos, que producen molestias como el mal olor, dolor al masticar en pacientes y sensibilidad en las piezas dentales, que difiriendo del tipo de concentración del *S. mutans* se encuentran en distintas categorías de caries.

Los malos hábitos de higiene personal y bucal van adoptándose como estilos de vida en las personas hasta que se adquieren malas prácticas de higiene, cabe mencionar que las comunidades odontológicas se han enfatizado en las causas biológicas que propagan dicha problemática siendo los factores determinantes la concentración bucal de *S. mutans* el principal agente etiológico.

HIPÓTESIS

Existe una correlación positiva entre la concentración de *Streptococcus mutans* y la severidad de caries y su clasificación. Una mayor concentración de la bacteria dará como resultado un grado de lesión cariosa más progresada.

OBJETIVOS

General

Realizar una comparación entre la concentración de *Streptococcus mutans* en saliva y la clasificación de caries, notando una mayor concentración del microorganismo en las caries de mayor progreso.

Específicos

- Realizar el aislamiento de *Streptococcus mutans* en la saliva de pacientes con caries.
- Llevar a cabo una cuantificación de las unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus mutans*, aisladas de una muestra de saliva.
- Aislar *Streptococcus mutans* en un agar selectivo.
- Relacionar la concentración del microorganismo cariogénico según la clasificación de caries que tenga el paciente.
- Establecer una comparación entre diferentes pacientes con diferentes clasificaciones de caries.

MARCO TEÓRICO

1. *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans es un importante agente etiológico de caries dental. Fue aislado en 1924 por J. Clarke, quien le dió su nombre ya que pensaba que eran formas mutantes de estreptococos. El hábitat natural de *S. mutans* es la cavidad oral, más específicamente la placa dental, un biofilm formado por varias especies de la cavidad oral que se forma en las superficies duras de los dientes (Lemos et al., 2019).

1.1 Bacterias Relacionadas

1.1.1 Género *Streptococcus*

El género *Streptococcus* engloba a un grupo muy heterogéneo de bacterias de forma redondeada, grampositivas, que se hallan muy distribuidas en la naturaleza. Son principalmente comensales y forman parte de la microbiota normal humana de la piel y las mucosas.

Tomando como base la secuencia del gen 16SrRNA se puede clasificar a los estreptococos en cinco grupos principales:

1. **Grupo piogénico:** son especies betahemolíticas, de colonias grandes, y que incluye especies que son patogénicas para el hombre.
2. **Grupo mitis:** aquí se incluye al neumococo y otros estreptococos habituales de la cavidad oral, que producen alfa hemólisis.
3. **Grupo anginosus o milleri:** formado por especies que se encuentran en la cavidad oral, tracto genital y gastrointestinal humano.
4. **Grupo salivarius:** incluye a 3 especies que se encuentran normalmente en la cavidad oral humana: *S. vestibularis*, *S. salivarius* y *S. thermophilus*.

- 5. Grupo bovis:** forman parte de la microbiota del tracto gastrointestinal de los animales. Pertenecen al grupo D de Lancefield.

Adicional a estos cinco grupos, se encuentra otro denominado “grupo mutans” que incluye a ocho especies que son genéticamente diversas. En este grupo comprende especies que están relacionadas con la producción de caries dental, como lo es *Streptococcus mutans* (Montes y García-Arenzana, 2007).

1.2 Características morfológicas

Coco Gram Positivo, en cadena, no móvil, catalasa negativo, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en aproximadamente 24 horas (Ojeda, Eliana Garcia, & Luis, 2013).

En cultivos de agar sangre, las colonias de *S. mutans* se logran diferenciar fácilmente por sus características: altas, convexas, pulvinadas y mucoides; tienen un tamaño de 0.5 a 1mm de diámetro y son opacas con un aspecto que recuerda a vidrio esmerilado.

La síntesis de dextrano a partir de sacarosa produce un exudado acuoso en la superficie de las colonias de *S. mutans*, dando la apariencia de un “charco” alrededor de las colonias. En medios de cultivo con sacarosa, esta bacteria tiene la capacidad de producir polisacáridos extracelulares y adquirir una apariencia opaca, rugosa y blanca, que no se adhiere al medio (Gamboa, 2014).

1.3 Características bioquímicas

Se trata de una bacteria catalasa negativa, productor de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en, aproximadamente, 24 horas. Fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, insulina y salicina con la producción de ácido *Streptococcus mutans* es una bacteria anaeróbica facultativa, con un

crecimiento óptimo en anaerobiosis. Normalmente no desamina la arginina para producir amoniaco.

Usualmente no producen ni hemólisis ni decoloración en agar sangre, es principalmente alfa o gamma hemolítico en agar sangre de cordero, aunque se han reportado unas pocas cepas hemolíticas (Ojeda, Eliana Garcia, & Luis, 2013).

1.3.1 Metabolismo de los carbohidratos

Streptococcus mutans basa su metabolismo exclusivamente en la glucólisis para la generación de energía. Una característica muy típica de esta especie es su habilidad para metabolizar una gran variedad de carbohidratos como la glucosa, lactosa, fructosa, sacarosa, entre otros.

La sacarosa ha demostrado que es la más cariogénica de todos los carbohidratos dietéticos. En el metabolismo de ésta por *S. mutans* están involucradas las enzimas glucosiltransferasa (GTF) y la fructosiltransferasa (FTF), que catalizan la producción de glucanos y fructanos, respectivamente. Estos intermediarios se pueden metabolizar para producir energía en forma de ATP, o pueden servir para la producción de componentes de la membrana y pared celular.

En caso de existir un exceso de carbohidratos, *S. mutans* es capaz de producir un polisacárido intracelular, un polímero del tipo glucógeno-amilopectina, que se almacena dentro de la célula bacteriana como gránulos y se utiliza como fuente de energía en momentos en los que no haya entrada de carbohidratos del exterior (Lemos, et al., 2019).

1.4 Hábitat

Streptococcus mutans no tiene una forma de vida libre fuera del ser humano. Reside en la boca, más específicamente en la placa dental en donde forma parte de un biofilm multiespecies que se forma en la superficie de los dientes permanentes

comúnmente. *S. mutans* se puede encontrar en la cavidad bucal de niños en menor medida debido a que sus piezas dentales no son permanentes.

La cavidad oral es un ambiente dinámico que sufre de fluctuaciones de pH, disponibilidad de nutrientes y variedad, concentración de oxígeno, temperatura y osmolalidad. Debido a su dependencia hacia su hospedador, *S. mutans* ha desarrollado varios mecanismos para soportar estas fluctuaciones (Lemos, et al., 2013).

1.5 Identificación fenotípica

Para la identificación microbiana se debe de realizar una comparación en ciertas características que destacan a las especies respecto del fenotipo de las bacterias, para ello existen diversos procesos de identificación entre los cuales deben basarse en principios que facilitan la selección de las pruebas para llegar a un diagnóstico adecuado.

Se establecen 3 niveles de procesamiento:

- **Pruebas primarias:** Son aquellas que son sencillas e inmediatas como la clasificación de las bacterias según su morfología observada al microscopio en la tinción de Gram u otras tinciones, crecimiento en medios de cultivo (Agar Sangre, Chocolate o MacConkey), oxidasa y catalasa, fermentación de glucosa, producción de esporas. Por medio de estas pruebas facilita la inducción ya que son métodos con mayor poder de discriminación, ya que se distinguen en el examen tanto macro y microscópico.
- **Identificación de género:** De igual forma que el proceso anterior va correlacionado, puesto que la hipótesis sobre la posible identificación de la bacteria se apoya en las características del cultivo (por ejemplo, las condicionantes de crecimiento atmosférico) y las pruebas primarias que ya se han mencionado con las cuales se determinan el género, grupo de familia a la que pertenece un aislamiento. Se puede tomar en cuenta los datos clínicos y

dependiendo de ello, se continúa con un patrón específico según las características fenotípicas.

- **Pruebas bioquímicas:** Se concluye con la identificación de la especie, dichas pruebas son altamente precisas y sensibles para las bacterias clínicamente significativas, se puede guiar desde el primer esquema dando la continuación de una batería de características de tamaño, forma consistencia y a veces por su color. Para las colonias de las bacterias el tamaño es uniforme en las especies, como lo son los estreptococos son de menor tamaño que los estafilococos o las enterobacterias. La textura de las colonias de igual forma suele ser significativas, existiendo una variedad desde la viscosidad o si son relativamente secas, con una superficie lisa, rugosa o granular (Fernández, A. et al. 2010).

1.5.1 Características de identificación de *Streptococcus mutans*

Al realizar el Gram, el *S. mutans* pertenece a las bacterias Gram positivo, que se agrupan en cadenas y para lograr su crecimiento óptimo necesita de medios enriquecidos y ambientes de microaerofilia o anaerobiosis, con una tensión de CO₂ al 10%. Para su identificación en cuanto a serotipos posee tres polisacáridos antigénicos (c, e y f), siendo el tipo c el más prevalente en la cavidad oral del ser humano

Para su aislamiento, es necesario de medios enriquecidos, tales como: agar Mitis Salivarius con bacitracina (MSB) y el agar (TYCSB) Trypticase Yeast-extract Cystine Saccharose con la variedad de poseer bacitracina. Dichos medios son selectivos para dicha especie debido a la presencia bacitracina y sacarosa con una concentración tolerable para el *S. mutans*, sin embargo, no son adecuadas para el resto de los microorganismos orales.

Esta especie también posee la capacidad de fermentar otros azúcares, especialmente sorbitol y manitol a diferencia de los otros *Streptococcus* orales. En cuanto a sus hidratos de carbono, si llegan a poseer una cantidad escasa, sus productos de fermentación son: acetato, etanol y formiato. En cambio, si estos son ricos en carbohidratos son capaces de producir ácido láctico el cual se asocia con el origen de las caries al ser una propiedad acidogénica.

El *Streptococcus mutans* tiene una alta velocidad para producir ácidos, entre un rango de 7.0-5.0, diferenciándose del resto por su capacidad de disminuir sus iones de H⁺ aumentando la proporción de la cepa y otras bacterias acidógenas y acidúricas (Sieber, 2012, pág. 12).

Tabla N°1: Características de los miembros del grupo *streptococci mutans* ⁽²³⁾

Especie	Serotipo	Hidrólisis de Arginina	Fermentación		Producción de H ₂ O	Crecimiento aeróbico	Susceptibilidad a la bacitracina	Hidrólisis de Esculina
			Rafinosa	Melobiosa				
<i>S.mutans</i>	c,e,f	-	+	+	-	+	-	+
<i>S.rattus</i>	b	+	+	+	-	+	-	-
<i>S.cricetus</i>	a	-	+	+	-	-	+	+
<i>S.sobrinus</i>	d,g	-	-	-	+	+	-	-
<i>S.ferus</i>	c	-	-	-	-	-	+	+
<i>S.macacae</i>	c	-	+	-	-	-	+	+
<i>S.downei</i>	h	-	-	-	-	-	+	-

Tabla no 1. Sieber, C. (2012). Características de los miembros del grupo *streptococci mutans*. [Tabla 1] Recuperado de: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/111754/sieber_c.pdf;sequence=1

1.6 Factores de virulencia

Varios investigadores alrededor de la década de los 50 estudiaron la patofisiología de *Streptococcus mutans* como un agente etiológico de caries dental. Como resultado de estos estudios se lograron establecer los factores de virulencia de *S. mutans*:

1. Su habilidad para producir grandes cantidades de ácidos orgánicos (acidogenicidad) a partir del metabolismo de una gran variedad de carbohidratos.
2. La habilidad para sobrevivir en un ambiente con pH bajo (aciduricidad).
3. La habilidad para sintetizar homopolímeros de glucanos extracelulares a partir de sacarosa, que juegan un papel crucial en la fijación inicial, colonización y acumulación de biofilms en la superficie de los dientes (Lemos, et al., 2013).

1.6.1 Aciduricidad

Debido a que *S. mutans* vive a niveles bajos de pH, esta bacteria ha evolucionado para tener una respuesta al estrés que le permite vivir en la cavidad oral, lo que le permite ganar contra la competencia de otras bacterias con menos aciduricidad.

Esta característica se debe a la alta producción de proteínas de membrana que se expresan en condiciones ácidas, llamada F-ATPasa. Esta proteína opera al bombear protones fuera de la célula a expensas de ATP, lo que mantiene el pH intracelular cercano a la neutralidad (Lemos, et al., 2013).

1.6.2 Formación de biofilm

Como uno de los principales agentes etiológicos de las caries dentales, *Streptococcus mutans* vive en la superficie de los dientes formando un biofilm, denominado placa dental. El metabolismo de los carbohidratos de *S. mutans* le permite utilizar la sacarosa como sustrato para sintetizar polímeros de glucanos.

Esta bacteria produce varias proteínas de superficie que pueden unirse a glucanos, lo que produce la formación del biofilm. Este proceso dependiente de sacarosa se caracteriza por ser el principal factor cariogénico de *Streptococcus mutans*, al promover la acumulación de células microbianas que producen una matriz polimérica que envuelve a la bacteria y la protege (Lemos et al., 2019).

Las enzimas implicadas en la formación de placa dental por parte de *S. mutans* se denominan glucosiltransferasas (GTs). Además de estas enzimas, la bacteria también produce proteínas de superficie que se unen a los glucanos producidos por las GTs, las cuales promueven aún más la adhesión de los glucanos a la superficie del diente.

Si bien la formación de la placa dental es uno de los factores de virulencia de *Streptococcus mutans*, también es una forma en la que la bacteria se protege para tolerar

cambios en su ambiente, por ejemplo: disponibilidad de nutrientes, fluctuaciones en la concentración de oxígeno y cambios de pH en la cavidad bucal.

Igualmente, esta bacteria tiene la capacidad de producir antibióticos conocidos como mutacinas que le permiten inhibir a microorganismos que compiten por nutrientes en el entorno (Matsumoto-Nakano, 2018).

En las primeras etapas de la formación de biofilm, los colonizadores tempranos (*S. gordonii*, *Streptococcus mitis* y *Actinomyces spp.*) se adhieren al esmalte dental gracias a la ayuda de proteínas presentes en la saliva y forman una red tridimensional que servirá como biofilm en condiciones no cariogénicas. En estas condiciones, con el nivel de pH cercano a la neutralidad, la producción de peróxido producido por comensales de la microbiota orofaríngea inhibe el crecimiento de *S. mutans*.

Las GTFs de *S. mutans* se absorben en el esmalte u otras estructuras bacterianas y en la presencia de sacarosa producen grandes cantidades de glucanos solubles e insolubles, lo que contribuye a la producción de una matriz de polisacáridos extracelular (EPS).

Esta matriz funciona como andamio para la estructura del biofilm. El consumo continuo de sacarosa produce una serie de cambios ecológicos y estructurales que favorecen el crecimiento de bacterias acidogénicas como *S. mutans*, cambiando así el pH bucal. El ambiente ácido de la boca afecta la hidroxiapatita del esmalte, llevando a desmineralización que comienza el proceso cariogénico (Lemos et al., 2019).

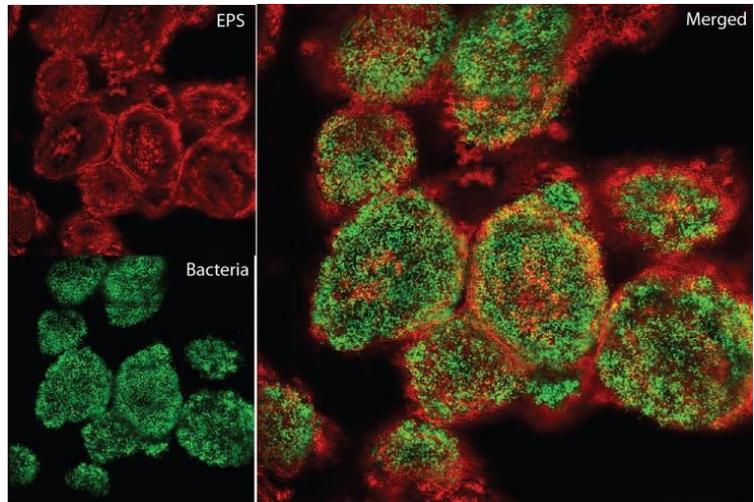


Figura no. 1 La matriz de EPS genera paquetes alrededor de las bacterias en el biofilm. **Fuente:** Lemos, J. A., Quivey, R. G., Koo, H., & Abranches, J. (2013). *Streptococcus mutans*: a new Gram-positive paradigm?. *Microbiology (Reading, England)*, 159(Pt 3), 436–445. <https://doi.org/10.1099/mic.0.066134-0>

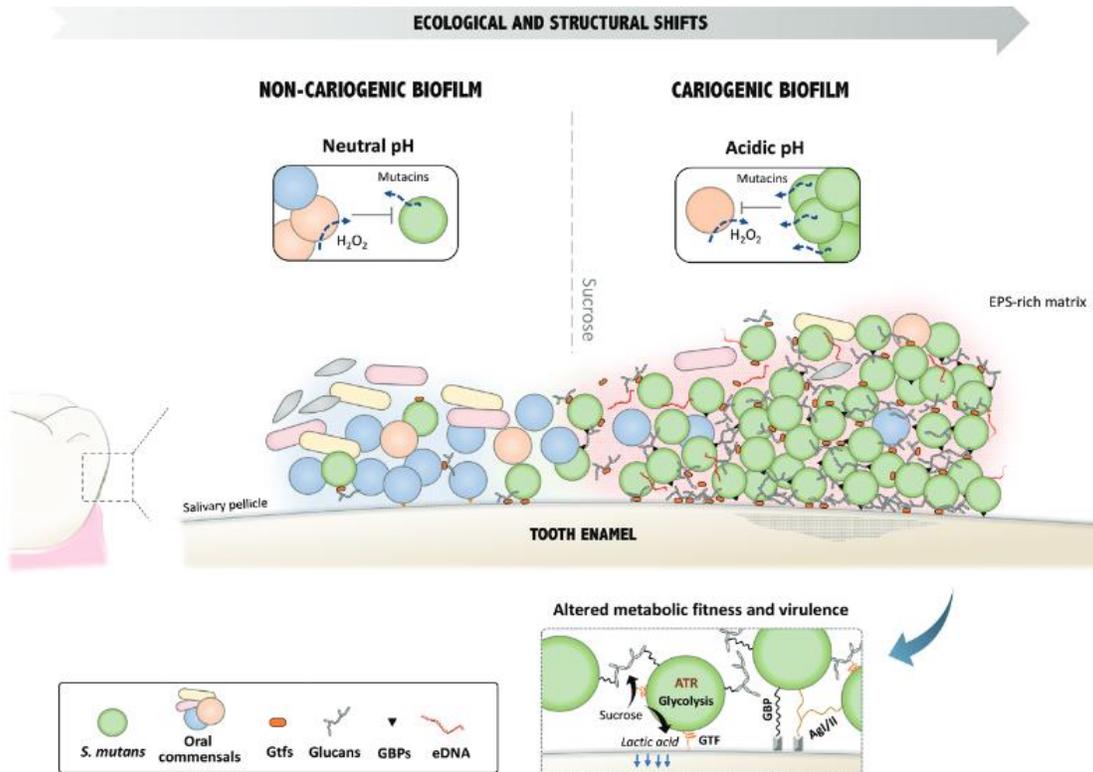


Figura no. 2 formación de biofilm. **Fuente:** Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., Brady, L. J. (2019). The biology of *Streptococcus mutans*. *Gram-Positive Pathogens*, 435-448.

1.6.3 Mutacinas

Uno de los principales factores de virulencia de *Streptococcus mutans* es la producción de bacteriocinas (antibióticos peptídicos) conocidas por mutacinas. Esta bacteria es una de las especies con mayor producción de bacteriocinas dentro de todo el género de *Streptococcus*. Varios estudios sugieren que las mutacinas ayudan a la bacteria a competir contra otras dentro de la cavidad oral, permitiéndole colonizar la boca. Por otra parte, también se cree que protegen al hospedador contra patógenos potenciales.

Se conocen dos grandes grupos de mutacinas: los lantibióticos y los no lantibióticos. El primer grupo tiene una acción sobre las bacterias Gram positivo, incluyendo aquellas cepas de *S. mutans* no productoras de mutacinas; por otro lado, los no lantibióticos se ha demostrado que tienen una mayor acción contra especies relacionadas (Merritt y Qi, 2011).

2. Microbiota orofaríngea

La microbiota normal se conforma por microorganismos que en condiciones no adecuadas pueden generar daños siendo causantes de alguna patología, sin embargo, estos habitan en un individuo sano para el balance o equilibrio de la zona evitando infecciones por hongos, bacterias o virus.

Se establece que: “Según estudios de la OMS/OPS, las infecciones asociadas a la atención de la salud afectan al 25% de pacientes de países en vías de desarrollo. Del 20% al 30% de los agentes infecciosos, son ingresados por personal médico.

Durante el transcurso de la formación académica de la carrera de medicina, se presentan acercamientos a escenarios hospitalarios que concluyen con una exposición continua a dicho entorno. Esto podría justificar una relación individuo-entorno-tiempo” (Sánchez et al., 2016).

También se ha determinado que tanto la microbiota orofaríngea como nasofaríngea se encuentra con una mayor susceptibilidad ante la exposición a agentes patógenos, siendo el grupo de mayor riesgo tanto estudiantes de medicina como el personal médico.

Justificándose mediante un estudio realizado en Bogotá, Colombia con una población de 56 individuos con un total de 224 cepas aisladas. “De las cuales el 50.9% faríngeas y 53.6% nasales corresponden a *Staphylococcus aureus*, En relación con la susceptibilidad se evidencian los mayores porcentajes de resistencia a Oxacilina 54% en las muestras faríngeas y de sensibilidad a Gentamicina 73.2% en las nasales. Es importante destacar en los estudiantes de IX mayor resistencia a la Oxacilina 50 de 72 estudiantes (69.4%) frente a estudiantes de II 26 de 76 (34.2%)” (Sánchez et al., 2016).

2.1 Bacterias

2.1.1 *Streptococcus spp.*

Los estreptococos son bacteria esféricas ordenados en cadenas o pares; durante el crecimiento no constituyen esposas y no son móviles, son aerobios facultativos, homofermentativos (forman ácido láctico) esto como producto de la fermentación de la glucosa.

Diversos tipos de estreptococos y clasificaciones por sus características y propiedades, *Streptococcus mutans* pertenece al grupo *Streptococcus viridans* y se encuentra en el área bucal junto con *Fusobacterium*, espiroquetas, difteroides, cocos gram-negativo, *S. sanguis*, *S. sobrinus* y *S. mitis*. Las características de *S. mutans* en la boca permite su colonización gracias a la temperatura, humedad y porque es una fuente permanente de nutrientes.

En la cavidad bucal oral existen distintos ecosistemas y el *S. salivarius* coloniza de preferencia la superficie dorsal de la lengua, *S. mitis* es el microorganismo predominante en la mucosa bucal, mientras que *S. sanguis* y *S. mutans* colonizan los

dientes. Para que exista esta colonización los microorganismos forman una delgada película orgánica de varias micras de espesor siendo como resultado la fijación de glucoproteínas ácidas de la saliva. Esta película formada proporciona fijación de las colonias y el desarrollo de microcolonias bacterianas lo que permite adherirse firmemente a la superficie y encontrar protección para evitar ser lavados por el flujo del líquido al cual están sometidos en estos sitios.

S. mutans es un microorganismo acidogénico y acidúrico que se asocia a caries dental. En 1916 Kligeger mostró que en la placa microbiana había un alta cantidad de cocos Gram positivo y en 1924 Clark aisló *Streptococcus* de lesiones cariosas que fermentan el manitol y las denominó mutantes porque aparentemente cambian a forma oval a diferencia de otros estreptococos, en 1986 Loesche introdujo el concepto de *S. mutans* para aquellos estreptococos que fermentan manitol, sorbitol y producen glucanos extracelulares a partir de la sacarosa y son cariogénicos (Rosa Eugenia Reyes, 2007).

2.1.2 *Lactobacillus spp.*

Son un grupo de organismos Gram-positivo, no forman esporas, no tienen motilidad y forma de cocos, carencia de catalasa. Son cocos y bacilos de longitud variable y de un grosor de 0,5-0,8µm. Son un grupo de bacterias fisiológicamente uniforme de pared Gram-positiva, anaerobias facultativas, catalasa negativa, carecen de actividad respiratoria porque les falta una enzima (citocromo catalasa). Son anaerobios tolerantes y en los medios de cultivo sólido forman colonias en presencia de aire.

En general son distribuidas en diferentes ecosistemas además de generarse a gran escala procesos para la producción comercial de alimentos fermentados, bebidas alcohólicas, ensilados, levaduras para la producción de cerveza, etc.

En realidad, hay una asociación del *Streptococcus mutans* y lactobacilos de la caries dental pues los lactobacilos se relacionan con la progresión de la lesión cariosa en corona y/o raíz. El alto grado de infección por lactobacilos se relaciona con la elevada actividad

de caries y con la elevada ingestión de carbohidratos fermentables como ya se había mencionado (Parra Huertas, 2010).

3. Caries

Las caries dentales resultan ser una problemática de salud pública por su alta prevalencia en el mundo, con una prevalencia elevada a nivel mundial siendo catalogada como una de las enfermedades multifactorial e infectocontagiosa, siendo el agente causal de mayor importancia en la colonización el *Streptococcus mutans*.

“Esta enfermedad es transmisible que progresa con el tiempo destruyendo los tejidos duros de los dientes con la desmineralización de diversas zonas, gracias a la formación de ácidos producidos por el metabolismo de las bacterias, se habla sobre una declinación por los países desarrollados, siendo la población infantil y adolescente el grupo más vulnerable por los es muy común en los niños de América Latina mostrándonos los márgenes porcentuales entre un 60% a 90% en niños de edad escolar (5-17 años) a sus inicios se presenta de forma clínica como “manchas blancas” las cuales al no ser tratadas oportunamente causarán cavitaciones, pérdidas dentales, infecciones locales y sistémicas, dolor, inflamación pulpar puede detectar la presencia de las caries dentales, debido” (Chávez et al., 2017).

3.1 Definición

La caries dental es un proceso patológico, infeccioso, multifactorial, localizado y transmisible que destruye los tejidos duros dentales. Este proceso ocurre gracias a un desequilibrio en el ecosistema oral que lleva al predominio de una microbiota oral que antes no provocaba daño, hacia una microbiota patógena (Gamboa, 2014).

3.2 Etiología

3.2.1 Teoría acidófila de Miller

Comprende los siguientes hechos principales:

1. Existen bacterias en la cavidad oral que producen ácidos, especialmente ácido láctico, mediante la vía glucolítica anaerobia, a partir de los azúcares de la dieta.
2. El esmalte está compuesto por sales de calcio, las cuales pueden disolverse en presencia de ácidos orgánicos.
3. La formación de ácido se puede observar en la placa dental, después de ingerir azúcares.
4. Debido a la acción de estos ácidos, el pH bucal desciende por debajo de 5.5, en zonas limitadas del esmalte y se inicia la descalcificación.

Según esta teoría, los ácidos producidos por las bacterias que colonizan la boca provocan una desmineralización del diente, más que nada una disolución de la hidroxiapatita contenida en éste (Núñez y García, 2010).

3.2.2 Teoría de la proteólisis-quelación de Schatz y Martín

Esta teoría atribuye la caries dental a dos reacciones interrelacionadas que ocurren simultáneamente: 1) destrucción microbiana de la matriz orgánica del diente mayormente proteínica; 2) disolución de los cristales de apatita por la acción de agentes de quelación orgánicos (ácidos, aminoácidos, aminas, péptidos y azúcares), algunos que se originan como producto de la descomposición de la matriz, otros presentes en los alimentos.

Sin embargo, se pone en duda la existencia de una acción proteolítica ya que se considera que la proteína del esmalte, una escleroproteína del grupo de las queratinas, es altamente resistente a la acción de enzimas proteolíticas (Núñez y García, 2010).

3.3 Factores de riesgo

Cuadro. 1 factores de riesgo para desarrollo de caries dental

- Alto grado de infección por Streptococcus mutans
- Alto grado de infección por lactobacilos
- Experiencia de caries anterior
- Eficiente resistencia del esmalte al ataque ácido
- Deficiente capacidad de remineralización
- Dieta cariogénica
- Mala higiene bucal
- Baja capacidad buffer de la saliva
- Flujo salival escaso
- Apiñamiento dentario moderado, severo, tratamiento ortodóntico y prótesis
- Anomalías del esmalte
- Recesión gingival
- Enfermedad periodontal
- Factores sociales
- Otros estados de riesgo

Fuente: Búcaro Gómez, J.C. (2018) *Caracterización epidemiológica de la salud bucal de niños de 12 años de edad de escuelas nacionales, Guatemala 2015. Análisis secundario de la base de datos Facultad de Odontología, Universidad San Carlos de Guatemala.* Trabajo de tesis de posgrado

3.4 Clasificación de caries

Esta clasificación puede realizarse desde diversos puntos de vista y así tenemos la clasificación de Black, que clasificó las lesiones cariosas según su ubicación en cinco clases; la de Mount y Hume, que clasificaron según la localización en tres clases y según la etapa de la enfermedad en cuatro clases más; Sistema Dr Pitts que clasifica en cuatro según el compromiso de tejidos (Gil, M. et al.2013).

3.4.1 Clasificación de Black

- **Clase I:** caries en fosas y fisuras de premolares y molares, en superficies linguales de incisivos superiores, surcos bucales y linguales de molares y en los defectos estructurales de todos los dientes
- **Clase II:** En caras proximales de molares y premolares
- **Clase II:** En caras proximales de dientes anteriores
- **Clase IV:** En caras proximales de dientes anteriores abarcando el borde incisal
- **Clase V:** En el tercio gingival de dientes anteriores y posteriores (Gil, M. et al.2013).

3.4.2 Clasificación de Mount y Hume

Posteriormente se creó la clase CL, clasificación que hace referencia a las cúspides afectadas. Por su localización:

- **Clase I:** Lesiones cariosas en puntos y fisuras, predominan en las zonas oclusales de las molares y premolares, los $\frac{2}{3}$ de las superficies vestibulares y palatinas de molares, de igual forma en las superficie palatinas de los incisivos.
- **Clase II:** Lesiones cariosas en áreas cervicales, de los dientes anteriores sin abarcar el ángulo incisal, en las zonas mórficas mesial y distal.
- **Clase III:** Lesiones cariosas en áreas de contacto, se originan en las superficies proximales de las molares y premolares (Gil, M. et al.2013).



FIGURA 6.1. Lesiones cariosas de fosas y fisuras.



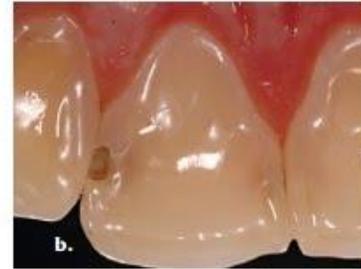
FIGURA 6.2. Lesión cariosa de superficies lisas.



FIGURA 6.3. Lesiones cariosas incisales.



FIGURA 6.4. Lesiones cariosa proximales a. posterior.



b.

Figura no. 3. Mendoza, E. (2017) Clasificación de las lesiones cariosas por superficies anatómicas. Recuperado de: <https://sites.google.com/site/portafoliodeeduardoupchfaest/home/5-4-clasificacion-de-las-lesiones-cariosas>

Por el tamaño de la lesión se clasifican en 5 tipos de lesión:

- **Lesión tamaño 1:** Lesión que ocurre con una alteración superficial en donde la remineralización es ineficiente y se requiere de un tratamiento restaurador el cual requiere de una mínima intervención invasiva.
- **Lesión tamaño 2:** Es más allá de la remineralización, es una lesión de tipo moderada con cavidad localizada la cual se genera dentro de la dentina sin debilitar las cúspides. Requiere de tratamiento restaurador de mayor tamaño (Restauración/ preparación)
- **Lesión tamaño 3:** Es una lesión de gran avance la cual ya ha progresado en dentina, debilitando las cúspides siendo socavadas por caries o una posible fractura. Se opta por un tratamiento restaurador, en donde se prepara una cavidad para una restauración directa o indirecta para lograr un reforzamiento de la pieza dental.

- **Lesión tamaño 4:** Lesión avanzada con pérdida de cúspide o borde incisal. En este grado de lesión hay destrucción total. Requiere de tratamiento restaurados, siendo una restauración de tipo indirecta para restablecer la función y el refuerzo dental remanente (Criollo, 2020).

3.4.3 Clasificación de la American Dental Association

La clasificación de caries hecha por la American Dental Association (ADA) se basa en un sistema de puntaje para cada superficie de la pieza dental basada en los siguientes parámetros: superficie dental, presencia o ausencia de lesión cariosa, sitio anatómico, severidad del cambio, y una estimación de la actividad de la lesión (Young, et al., 2015).

3.4.3.1 Superficie en buen estado

En el Sistema de Clasificación de Caries de la ADA (ADA CCS) las superficies lisas, cervicales y de raíz reciben consideraciones similares debido a que comparten varias características. En su estado saludable, la superficie está en buen estado (sound surface) y no existe lesión detectable.

La pieza dental mantiene sus características normales de color, transparencia y brillo. También puede ser el caso que la pieza ha tenido una restauración adecuada o se la ha realizado un sellante sin ningún rastro de lesión cariosa (Young, et al., 2015).

3.4.3.2 Lesión inicial

La primera etapa en la que se puede detectar una lesión compatible con desmineralización. Se limita al esmalte o la periferia de la dentina en la superficie de la raíz dental. Sólo se pueden detectar en superficies limpias y secas.

La presentación clínica incluye cambio de color de blanco a café o manchas blancas en la pieza. En las fisuras dentales hay un cambio de color franco, pero no se aprecia desmineralización significativa. A las lesiones iniciales no se les considera

cariosas (sin pérdida de la integridad de la superficie) y pueden tratarse con remineralización. En estudios epidemiológicos se pueden clasificar como superficies en buen estado (Young, et al., 2015).

3.4.4.2 Lesión moderada

Mayor desmineralización de la pieza con microcavitación del esmalte y/o ensombrecimiento de la dentina visible a través del esmalte. En este tipo de lesión se aprecia signos visibles de pérdida de esmalte en las fisuras, superficies lisas, o pérdida de dentina en la raíz (Young, et al., 2015).

3.4.4.3 Lesión avanzada

Este tipo de lesiones tienen una cavitación franca a través del esmalte y la dentina está clínicamente expuesta. Dentro del ADA CCS, cualquier lesión visiblemente cavitada que muestra la dentina en cualquier superficie se clasifica como avanzada. En estudios epidemiológicos, estas lesiones se denominan como deterioradas (Young, et al., 2015).

American Dental Association Caries Classification System.		AMERICAN DENTAL ASSOCIATION CARIES CLASSIFICATION SYSTEM					
	BUEN ESTADO	INICIAL	MODERADA	AVANZADA			
Presentación Clínica	Sin lesión clínicamente detectable. Pieza con características normales de color, transparencia y brillo.	Lesión temprana compatible con poca desmineralización. Limitada al esmalte o a la periferia de la dentina. Las lesiones más tempranas sólo son detectables luego del secado. Cuando son activas suelen ser blancas o café y el esmalte pierde su brillo habitual.	Signos visibles de deterioro del esmalte o signos de desmineralización moderada de la dentina.	Cavitación franca de la dentina y exposición. La lesión está severamente desmineralizada.			
OTROS	Sin cambio en la superficie o bien restaurado	Visualmente no cavitado	Microcavitación establecida	Cavitación profunda y desminada			
Dentina infectada	No	Poco probable	Posible	Presente			
Apariencia de las superficies oclusales (puntas y fisuras)	ICDAS 0 	ICDAS 1  ICDAS 2 	ICDAS 3  ICDAS 4 	ICDAS 5  ICDAS 6 			
Apariencia de las superficies lisas y raíz		 	 	 			

Figura no. 4 clasificación de caries según la ADA. Recuperado de: Young, D. A., Nový, B. B., Zeller, G. G., Hale, R., Hart, T. C., Truelove, E. L., ... & Beltran-Aguilar, E. (2015). The American Dental Association caries classification system for clinical practice: a report of the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *The Journal of the American Dental Association*, 146(2), 79-86. [Traducido]

3.5 Bacterias cariogénicas

Entre los microorganismos señalados como promotores de caries dental se encuentran, en orden de frecuencia: 1) *Streptococcus mutans*; 2) especies *Lactobacillus*; y 3) *Actinomyces*. Sin embargo, los autores identifican a *S. mutans* como el agente etiológico más importante (Gamboa, 2014).

De los microorganismos mayormente aislados de caries se encuentran dos especies de estreptococos: *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*. Ambos tienen factores de virulencia similares que les permiten adherirse al tejido duro del diente y un metabolismo especializado que puede incorporar una gran variedad de carbohidratos diferentes.

Los autores describen ampliamente al género *Lactobacillus* como un agente en la progresión de las lesiones cariogénicas, en especial en aquellas que afectan la dentina. Sin embargo, no posee la misma habilidad de *S. mutans* de adherirse a superficies duras, por esto se aísla más frecuentemente de zonas como fosas y fisuras de cavidades dentales profundas.

Otras bacterias mucho menos frecuentes se han descrito en otras investigaciones como *Veillonella*, *Bifidobacterium*, *Atopobium*, *Granulicatella* e incluso *Candida*, esta última implicada más frecuentemente en la enfermedad en niños. Sin embargo, no existen suficientes estudios para estos microorganismos y tampoco son aislados con frecuencia, además también se aísla *S. mutans* en la misma lesión (Soro, 2015).

3.5.1 Streptococcus mutans como causante de caries

Streptococcus mutans se encuentra permanentemente en la cavidad oral posterior a la erupción dental, ya que necesita de la presencia de tejido duro para poder colonizar. Por esta razón, los niños no tienen concentraciones tan elevadas de esta bacteria en la boca. Varios estudios sitúan a *S. mutans* como un factor de riesgo para tener en cuenta la prevención y control de las caries dental (Gamboa, 2014).

3.5.2. *Lactobacillus acidophilus* como causante de caries

Los lactobacilos se relacionan con la progresión de la lesión cariosa en corona y/o raíz. El alto grado de infección por lactobacilos ($>10^6$ UFC *Lactobacillus*/mL de saliva) y se relaciona con elevada actividad de caries y con la elevada ingestión de carbohidratos fermentables

Un examen clínico de los dientes con instrumentos adecuados para el estudio de los casos se hizo notar el número de caries existentes hasta ese momento dando como consecuencia directa de la acción de *Lactobacillus acidophilus* a la hora de efectuar los recuentos donde se determinó el índice CPO de cada muestra.

Las observaciones sobre cultivos de las colonias de *Lactobacillus acidophilus* y la observación con el número de colonias de caries donde su morfología es (forma discoidea, bordes regulares bien definidos, color amarillo oscuro brillante).

El medio LBS es satisfactorio para estas colonias ya que permite un método diferencial de colonias y en consecuencia los recuentos se consideran aproximados dichos resultados obtenidos al comparar los recuentos de *Lactobacillus acidophilus* con el número de caries, muestran que dicho bacilo juega un papel de máxima importancia en el desarrollo de la lesión.

Se comprende entonces el examen clínico de la boca, cultivando muestras de saliva en el medio LBS y recuentos de colonias de *Lactobacillus* de niños donde las observaciones sobre cultivos y tinción de muestras fueron el punto más importante para poder desempeñar un estudio de esta bacteria, se concluye que para poder lograr este estándar es importante utilizar el medio LBS para *Lactobacillus acidophilus* en caries dental (Pérez Quiñones, 2007).

3.6 Complicaciones de las caries

La organización mundial de la salud establece los riesgos que pueden desencadenarse a largo plazo a causa de un diente enfermo, siendo las aberturas que se originan por el deterioro del esmalte del diente el cual ocurre por la desmineralización y remineralización de las estructuras dentales, permitiendo la llegada de otros microorganismos. Estas se clasifican según su profundidad como lesiones incipientes dental (Carrillo, 2010).

3.6.1. Desmineralización

Esto ocurre en un pH de 5.5 relativamente ácido, es decir que la cavidad oral posee una saturación de iones minerales respecto del mineral que se encuentra en el diente. Estructuralmente el diente se conforma de cristales de esmalte específicamente apatita carbonatada que se encuentra dispersa en la presencia tanto de ácido láctico y acético, que son producto de la acción de los microorganismos que conforman la placa bacteriana. Siendo la apertura para la lesión de una carie la pérdida de compuestos minerales de apatita de la estructura del esmalte o bien el resultado del desbalance de desmineralización- remineralización.

En su diagnóstico en su mayoría puede lograr pasar por desapercibido la lesión cariosa, y en otras ocasiones pueden observarse en algunos sitios como unas pequeñas manchas blancas, siendo el producto que se origina a partir de la acción de ácidos producidos por las mismas bacterias, produciendo la destrucción de las superficies externas del diente

Si la lesión es progresiva existe una mayor pérdida de mineral en su interior y la región superficial colapsa, produciendo cavitación, siendo una consecuencia irreversible y difícil de llevar a la remineralización, es decir, no es posible contrarrestar la lesión incipiente (Carrillo, 2010).

3.6.2 Remineralización

Es la ganancia neta que se obtiene del material calcificado en la estructura dental, reemplazando el que se perdió en la desmineralización; surgiendo a partir de un proceso físico-químico donde ocurre una sobresaturación de iones en la solución respecto del esmalte, el crecimiento de cristales y la formación de núcleos. En la sobresaturación de iones surgen enlaces y a la vez ocurre una deshidratación, de igual forma ocurre una agrupación de núcleos, los cuales participan en forma de cristales en los espacios del esmalte que han ocurrido a partir de la desmineralización.

Al finalizar, los cristales que se precipitaron inicialmente aumentaran en tamaño de forma isotrópica, o bien, en diferentes direcciones y velocidades según las distintas caras de los iones.

De manera natural el esmalte de los dientes está en constante contacto con saliva y biopelículas, por lo que los procesos químicos de movilización de iones se encuentran de manera permanente (Catellanos, J. et al. 2013).

El autor afirma que: “Un agente remineralizante se puede definir como una sustancia capaz de promover la remineralización del tejido dental. La saliva es el agente remineralizante natural por excelencia por su contenido de PO_4^{-3} , como se ha explicado. Bajo condiciones fisiológicas, logra de manera eficiente mantener el equilibrio entre la sustancia dental y la biopelícula, y en condiciones adversas, cuando por deficiente remoción de la biopelícula o ingesta de azúcares, entre otros, el pH tiende a disminuir, busca revertir el proceso de desmineralización.

En este orden de ideas, también se considera la saliva un vehículo clave para fomentar la remineralización del esmalte a través de otros agentes remineralizantes” (Catellanos, J. et al. 2013).

3.6.3. Lesiones incipientes dentales

3.6.3.1 Zona Traslúcida

También denominada lesión inicial de caries, esta se puede desarrollar tanto en las fosas y fisuras de la región superficial lisa del esmalte y en las superficies radiculares. Una de las características macroscópicas que surgen de manera inmediata en el esmalte es una mancha translúcida dando un aspecto de opacidad, similar a una tiza y sin brillo.

“Es el frente de avance de la lesión del esmalte, se encuentra presente en un 50% de las lesiones y tiene un promedio de 40 micrómetros de ancho. Existe una pérdida mineral de 1,2% por unidad de volumen y un volumen del poro de 1,2%. Su apariencia translúcida se basa en el hecho que la quinolina penetra fácilmente en los poros aumentados por la pérdida mineral y como la quinolina tiene el mismo índice de refracción de los cristales, el resultado será una zona menos estructurada y de apariencia translúcida” (Balda, et al. 1999).

Habitualmente se encuentran en la zona gingival de forma paralela (cara vestibular), en el sitio de las caras proximales o mesial y en los laterales de las paredes en las caras oclusales.

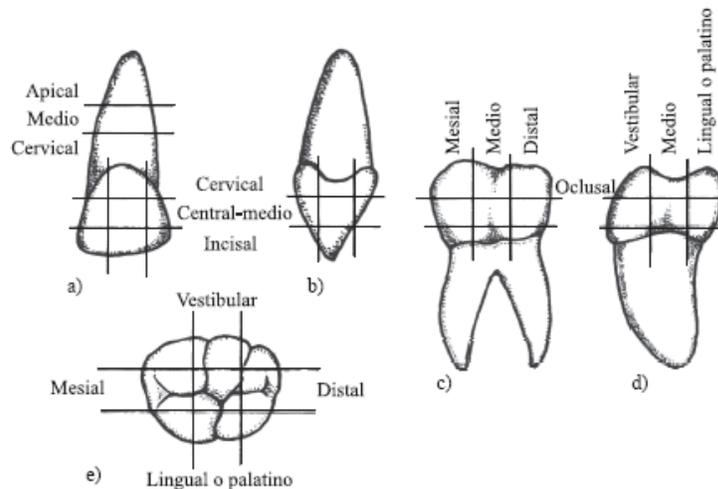


Figura no. 5 Imágenes gráficas periodontales varia Recuperado de:

Recuperado de: <https://morontecnicaturaim.es.blogspot.com/2010/05 /imagenes-morfologicas-pd-varias-3.html>

3.6.3.2 Zona oscura

En cuanto a la alteración del esmalte es la segunda lesión que se origina, ya que previo a ella se encuentra la lesión traslúcida o superficial. Se ha establecido que representa entre el 90 al 95% de las lesiones incipientes, en dicha lesión existe de 2 a 4% de pérdida respecto a la unidad de volumen siendo susceptible a la luz polarizada a diferencia del esmalte sano donde su birrefringencia es negativa.

En la experimentación in Vitro se ha logrado determinar que se originan poros de distintos tamaños (grandes o pequeños), a diferencia de la lesión traslúcida que solo se observan poros relativamente grandes. Cuando se realiza un corte de tejido, se ha observado en la tinción ya sea con quinolina o bálsamo de Canadá es imposible que el reactivo sea capaz de penetrar el sistema de microporos de la zona oscura. A dicho efecto se le ha denominado “filtro oscuro” debido a que los microporos se encuentran llenos de aire o de vapor en la luz dispersa produciendo una coloración más oscura.

Los microporos en la zona oscura no son por el producto de la remineralización sino por el resultado de la remineralización interna de la lesión, indicando la cantidad de remineralización debido al tamaño de la zona, en otros términos, las zonas oscuras que se encuentran muy grandes representan a las zonas que han sido muy remineralizadas y sean el resultado de una lesión de avance lento (Alvarado, et al. 2003).

El cuerpo de la lesión Es una de las porciones más grandes del esmalte carioso en la lesión pequeña, y se sitúa en el área colocada y profunda con relación a la superficie. Muestra en la periferia un volumen mínimo de poros de un 5 %, con un aumento aproximado de 25% en el centro de la lesión pequeña. Cuando se realiza el diagnóstico es visible de manera simultánea el tamaño y la distribución del cuerpo de la lesión mediante radiolucidez. Existe un aumento de materia orgánica y agua como resultado del acceso a las bacterias que se encuentran en la boca (Arismendi, J. et al. s.f).

3.6.3.2 Zona superficial

Una de las principales características del esmalte, es que puede ocurrir alto grado de desmineralización y aun así la capa superficial puede brindar un aspecto que relativamente intacta, sin embargo, la lesión se encuentra a nivel de la sub- superficie. Dicha zona es de un aproximado de 30µm, existen varias teorías que explican la resistencia del esmalte de la superficie a la disolución cariosa, tal como la mineralización, que como anteriormente se explica que es el sitio de mayor participación de los iones de calcio y fósforo liberados por la disolución de la superficie.

Para el diagnóstico es elemental el examen radiográfico que indica el sitio de la extensión total de una lesión de carie, si esta se detecta en una radiografía de aleta de mordida observándose un borde en el esmalte exterior, se determina de manera histológica que existe una alteración de la dentina subyacente. Sin embargo, la superficie del esmalte aún puede encontrarse en óptimas condiciones, de tal forma que es importante destacar que es en dicha etapa es probable que la dentina no se encuentre infectada por bacterias, a menos que ya exista una cavidad (Arismendi, J. et al. s.f).

3.7 Epidemiología de caries

3.7.1 Índices epidemiológicos de caries

3.7.1.1 Índice CPO-D

Desarrollado por Klein, Palmer y Knutson, se ha convertido en un índice fundamental en los estudios odontológicos epidemiológicos para la cuantificación de prevalencia de caries dental. Este índice señala las caries presentes como las pasadas, ya que toma en cuenta los dientes con lesiones y tratamientos previamente realizados.

Para calcular el CPO (Caries, obturaciones, pérdidas) se realiza la sumatoria de los dientes permanentemente cariados, perdidos y obturados entre el total de sujetos examinados, ya que es un promedio. Así se obtiene un promedio de la prevalencia de caries en una población, entre mayor el número más lesiones cariosas se han encontrado en los individuos como una comunidad (Fernández, et al., 2008).

3.7.1.2 Índice CEO-D

Muy parecido al CPO-D, pero se utiliza en poblaciones infantiles ya que se toma en cuenta aquellas lesiones en dientes temporales. Existen excepciones en este índice como lo son aquellos dientes extraídos para tratamiento de ortodoncia o perdidos por accidentes. Esta adaptación del índice CEO-D fue propuesta por Gruebbel (Fernández, et al., 2008).

3.7.2 Antecedentes en Guatemala

Las investigaciones epidemiológicas en el país han demostrado que la caries dental tiene alta prevalencia en la población guatemalteca. Han existido varias investigaciones a lo largo de los años, sin embargo, no se cuentan con datos actualizados a la fecha:

- 1965-1967: un estudio realizado por el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) en 40 poblaciones de Guatemala en edades entre 0-70 años obtuvo un índice de CPO-D de 10.6.
- 1981-1983: se realizó un estudio por la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos en 43 poblaciones en niños de 12 a 15 años. Demostrando un CPO-D de 14.49.
- 1985-1987: de nuevo la Facultad de Odontología de la USAC realiza otro estudio en 31 poblaciones en niños de 3 a 6 años. Obteniendo un CEO-D de 11.43.
- 1987: el INCAP realizó una investigación en 49 escuelas de nivel primero en niños de edades entre 5 a 17 años. Se encontró un CEO-D de 4.47 y CPO de 5.60.
- 1991: el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social realizó un estudio de prevalencia de caries en 40 escuelas de las cabeceras departamentales de Guatemala, se incluyó a niños entre 2 a 18 años. Se obtuvo un CPO-D de 7.
- 1990-1992: la Facultad de Odontología de la USAC llevó a cabo un estudio en 42 escuelas en estudiantes entre 6 a 17 años. Los valores de CPO-D por región fueron: nororiente 14.98, central 11.67, norte 9.60, occidente I 12.83, occidente II 12.95, suroccidente 12.90 y suroriente 9.83.

- 1999-2002: la Comisión Nacional de Salud Bucal (CONASABU) realizó un estudio por regiones en niños entre 12 a 15 años, que arrojó un CPO-D de 5.68.
- 2003: los doctores Archila L., Bartizek R.D., Gerlach R.W., Jacobs S.A y Biesbrock A.R. realizaron un estudio de prevalencia en dos grupos de niños entre 6 a 8 años y 9 a 12 años. Encontraron un índice CPO-D en Cobán de 10.96, Sololá 10.09, Ciudad de Guatemala 8.67 y Chiquimula 8.70.

Si bien los estudios en el país han sido escasos y no se registran nuevas investigaciones, se puede notar que en los más jóvenes del país existe una enfermedad prevalente. En el estudio realizado más recientemente por Búcaro Gómez, J.C., se da a conocer que en el país los niños de 12 años atendidos por la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala presentan un índice de CPO-D mayor o igual a 6 (Búcaro, J., 2018).

3.8 Efecto inhibitorio de pastas dentales frente al *Streptococcus mutans*

A finales de los años 60 se introdujeron al mercado las pastas dentales en países industrializados, a partir de ello se extendió su uso en todo el mundo. Entre sus efectos preventivos se ha demostrado a través de la literatura científica, que su uso es altamente recomendado para la prevención de las caries dentales.

Se establece que: “Muchas de estas Pastas contienen compuestos antimicrobianos para reducir la placa bacteriana. Candray R, et al. en el 2011, evaluaron los efectos que, de los antimicrobianos Clorhexidina, Xilitol y Triclosán, en la reducción de *Streptococcus mutans* en saliva encontrando una mayor reducción con Triclosán” (Chávez, 2017).

MÉTODOS

Universo

El universo de la investigación incluye a todos los pacientes que asistieron a la clínica dental Sonrisas por Siempre en la zona 18 de la Ciudad de Guatemala en el periodo de los meses de enero a mayo del año 2022.

Población

Todos aquellos pacientes que cumplan con el requisito del universo deberán presentar también una lesión cariosa en cualquiera de las piezas dentales para poder entrar en la categoría de población. La lesión se clasifica según el sistema de clasificación de caries de la ADA (American Dental Association), que toma en cuenta la progresión de la lesión más que la localización de la caries como otros sistemas de clasificación.

Tipo de investigación

Se realiza un estudio de corte transversal analítico.

Variables

Variable independiente

Clasificación/progresión de lesión cariosa

Variable dependiente

Concentración de *Streptococcus mutans*

Recursos

Recursos materiales

Toma de muestra

- Tubo de recolección estéril
- Guantes
- Mascarilla
- Paleta baja lenguas

Procesamiento de la muestra:

- Agar Mitis Salivarius
- Cajas de Petri de plástico (100mm x 15mm)
- Plancha calefactora eléctrica
- Balanza analítica
- Refrigeradora
- Jarra de anaerobiosis
- Mechero
- Autoclave
- Agua destilada
- Lupa
- Erlenmeyer (1L)
- Cinta testigo
- Asas calibradas de 0.001ml desechables
- Rotulador permanente
- Agua destilada
- Campana de flujo laminar
- Incubadora microbiológica

Recuento de colonias

- Lámpara
- Guantes
- Papel limpiador
- Lupa
- Campana de flujo laminar

Recursos humanos

Dentro de los recursos humanos empleados en la investigación se incluyen a los pacientes, el cirujano dentista y las investigadoras.

Toma de muestra salival

Los pacientes son instruidos en no comer, lavar o enjuagar sus dientes por lo menos una hora antes de la toma de muestra. Se recolectan las muestras de saliva mediante flujo salival estimulado. Todas las muestras tomadas en un día son refrigeradas (4°C) y transportadas al laboratorio para su posterior procesamiento microbiológico.

Junto con la toma de muestra se realiza la clasificación de caries según el esquema ICDAS por un odontólogo.

Estudio microbiológico

Se determinará la concentración de *Streptococcus mutans* mediante la siembra en agar selectivo Mitis Salivarius y confirmación del microorganismos con siembra en agar manitol sal. La siembra se realiza utilizando asas calibradas de 0.001ml. Cada muestra se siembra en ambos agares y se realiza el conteo en el medio Mitis Salivarius para la determinación de UFC/ml.

Cada uno de los medios con la siembra la muestra que representa a cada participante del estudio, se incubó durante 24 horas en anaerobiosis en jarras para posteriormente realizar el conteo de colonias para la determinación de la concentración de *S. mutans*. Se realizan pruebas de identificación del microorganismo como reacción positiva en agar manitol sal, características típicas en agar Mitis Salivarius (colonias pequeñas, brillantes, azul claro, convexas) y características típicas en tinción de Gram.

Método de conteo de colonias

Se realiza el conteo de las colonias características al fenotipo, utilizando una lupa se observa para realizar el conteo de aquellas colonias que se caracterizan por ser colonias azules, pequeñas, cóncavas y borde redondeado. El número total de colonias es mediante el recuento individual que se relacionan al factor de dilución utilizado, dando como resultado final el número de colonias por mL (UFC/mL).

Dichos resultados se registraron en el programa Excel y mediante estadística descriptiva se comprobó la hipótesis de la investigación (promedio, desviación estándar, porcentaje).

Análisis estadístico de la información

Se realiza una estimación de la proporción de personas con lesiones cariosas con aquellas que no las presentan, en comparación con la clasificación de caries y la concentración de la bacteria de interés (*Streptococcus mutans*). Se emplea el uso de estadística descriptiva para una comprensión en la correlación de la concentración de colonias de *S. mutans*, y la clasificación y severidad de lesión cariosa.

RESULTADOS

Tabla no. 2 media de UFC/ml de *Streptococcus mutans* según clasificación de caries

Clasificación de caries	Recuento de UFC/ml
ICDAS 0	38,000
ICDAS 1	91,000
ICDAS 2	101,000
ICDAS 3	136,000
ICDAS 4	175,000
ICDAS 5	212,000
ICDAS 6	208,000

Gráfica no. 1 media de UFC/ml de *Streptococcus mutans* según clasificación de caries

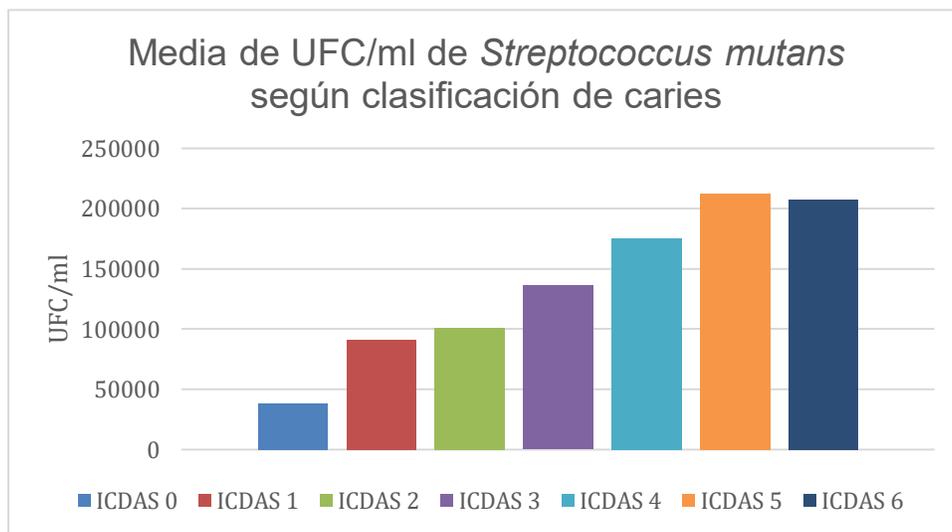


Tabla no. 3 recuento promedio de UFC/ml de *Streptococcus mutans* según grupo de edad y clasificación de caries

GRUPO DE EDAD	CLASIFICACIÓN DE CARIES						
	ICDAS 0	ICDAS 1	ICDAS 2	ICDAS 3	ICDAS 4	ICDAS 5	ICDAS 6
0-15	n/a	100,000	80,000	136,000	178,000	n/a	250,000
16-20	59,000	96,000	101,000	134,000	176,000	n/a	n/a
21-30	39,000	104,000	102,000	133,000	172,000	219,000	n/a
31-40	37,000	68,000	126,000	141,000	184,000	234,000	263,000
41-50	18,000	87,000	97,000	140,000	189,000	228,000	n/a
51-60	36,000	n/a	n/a	98,000 UFC/ml	177,000	n/a	n/a
61-70	n/a	n/a	87,000	148,000	159,000	231,000	262,000
71-80	n/a	n/a	72,000	n/a	n/a	n/a	n/a
81-90	n/a	66,000	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
91-100	n/a	n/a	73,000	n/a	n/a	n/a	n/a

Gráfica no. 2 Media de UFC/ml de *Streptococcus mutans* según grupo de edad y clasificación de caries

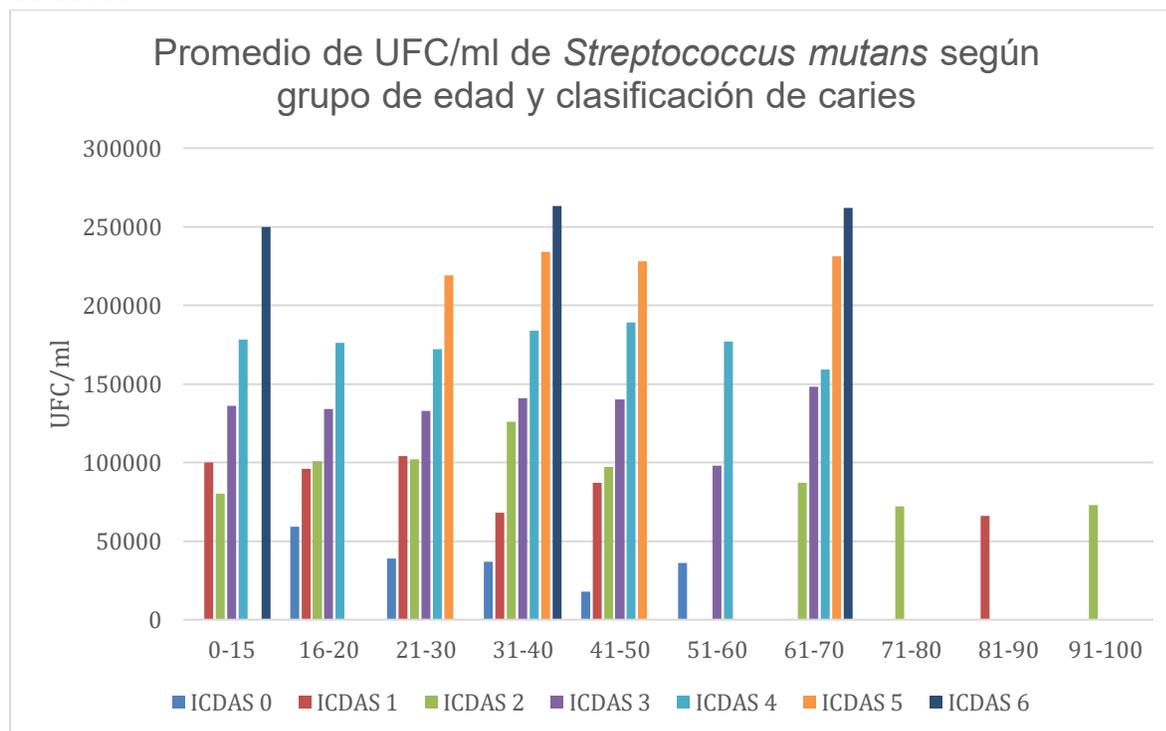


Tabla no. 4 recuento promedio de UFC/ml de *Streptococcus mutans* según sexo y clasificación de caries

CLASIFICACIÓN DE CARIES	SEXO	
	Femenino	Masculino
ICDAS 0	32,000	43,000
ICDAS 1	97,000	93,000
ICDAS 2	108,000	96,000
ICDAS 3	136,000	141,000
ICDAS 4	177,000	172,000
ICDAS 5	223,000	230,000
ICDAS 6	256,000	263,000

Gráfica no. 3 promedio de UFC/ml de *Streptococcus mutans* según sexo y clasificación de caries

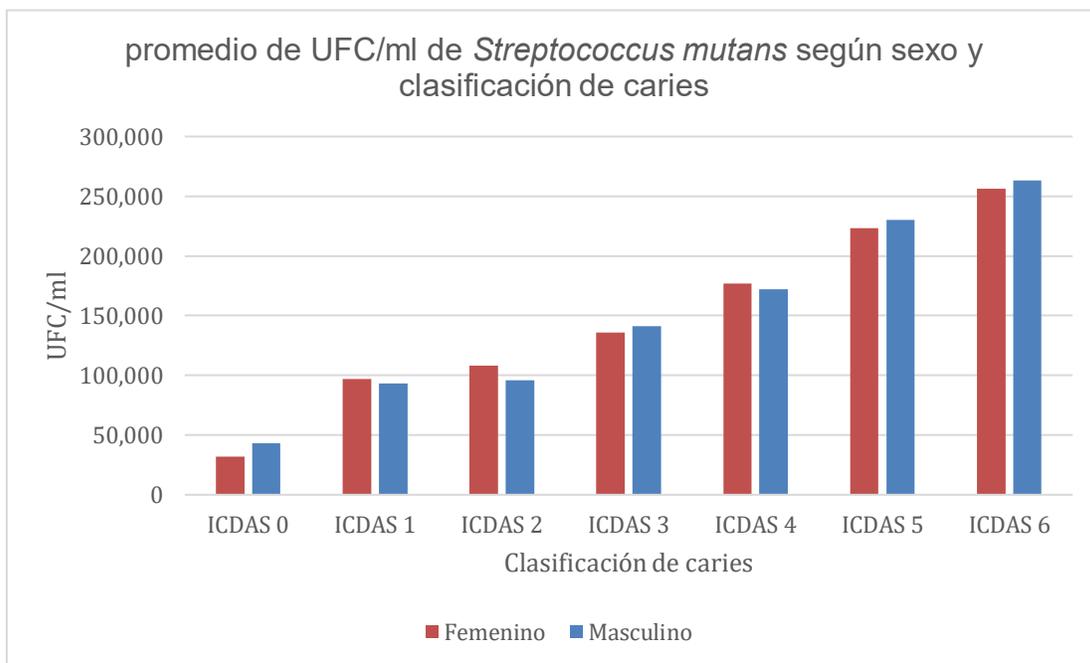


Tabla no. 5 cantidad de pacientes según grupo de edad y clasificación de caries

GRUPO DE EDAD	CLASIFICACIÓN DE CARIES							Total
	ICDAS 0	ICDAS 1	ICDAS 2	ICDAS 3	ICDAS 4	ICDAS 5	ICDAS 6	
0-15	0	3	5	5	1	0	1	15
16-20	1	5	6	8	5	0	0	25
21-30	8	15	21	21	15	4	0	84
31-40	8	5	14	19	15	3	2	66
41-50	2	2	14	7	7	2	0	34
51-60	1	0	0	1	2	0	0	4
61-70	0	0	1	3	1	5	1	11
71-80	0	0	2	0	0	0	0	2
81-90	0	1	0	0	0	0	0	1
91-100	0	0	1	0	0	0	0	1
Total	20	31	64	64	46	14	4	243

Gráfica no. 4 cantidad de pacientes según grupo de edad y clasificación de caries

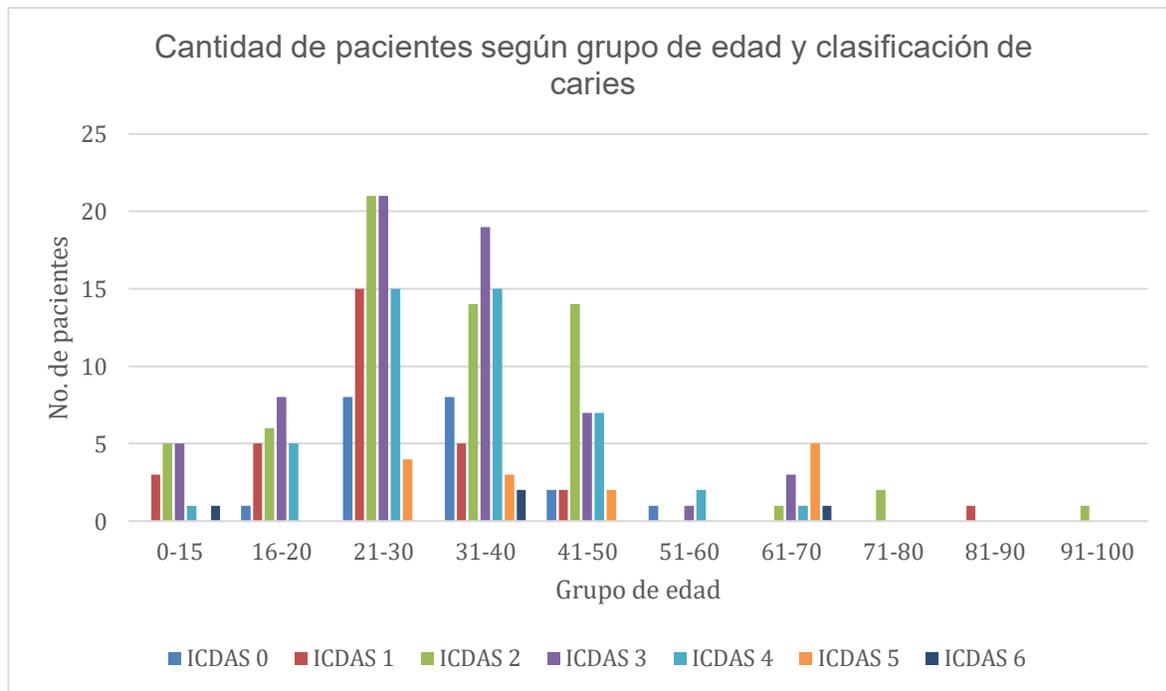


Tabla no. 6 cantidad de pacientes según sexo y clasificación de caries

CLASIFICACIÓN DE CARIES	SEXO		Total
	Femenino	Masculino	
ICDAS 0	9	11	20
ICDAS 1	10	21	31
ICDAS 2	36	28	64
ICDAS 3	31	33	64
ICDAS 4	26	20	46
ICDAS 5	5	9	14
ICDAS 6	2	2	4
Total	119	125	243

Gráfica no. 5 cantidad de pacientes según sexo y clasificación de caries

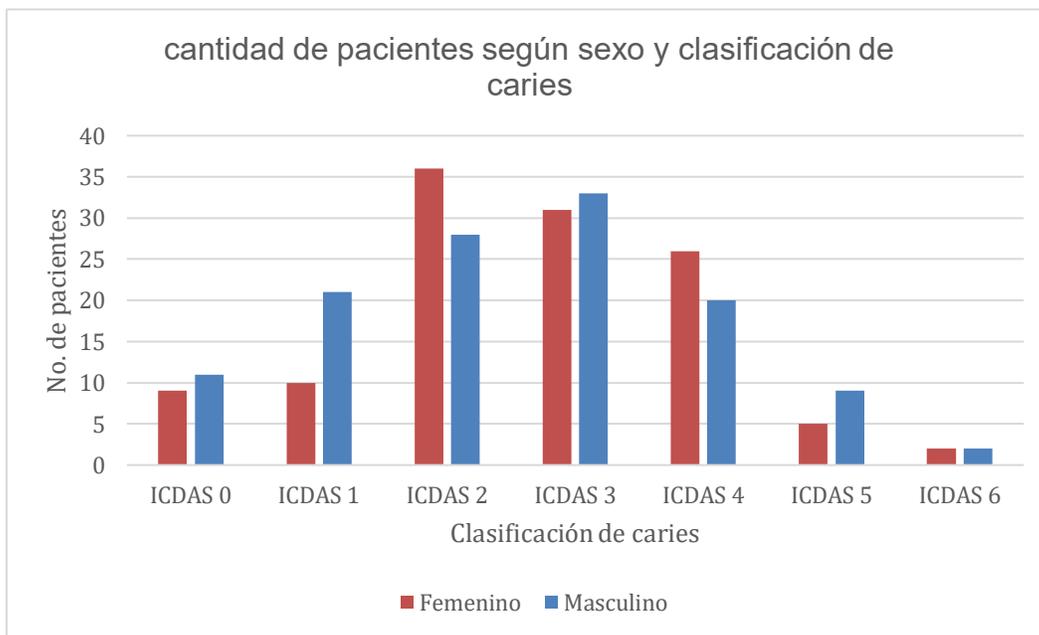
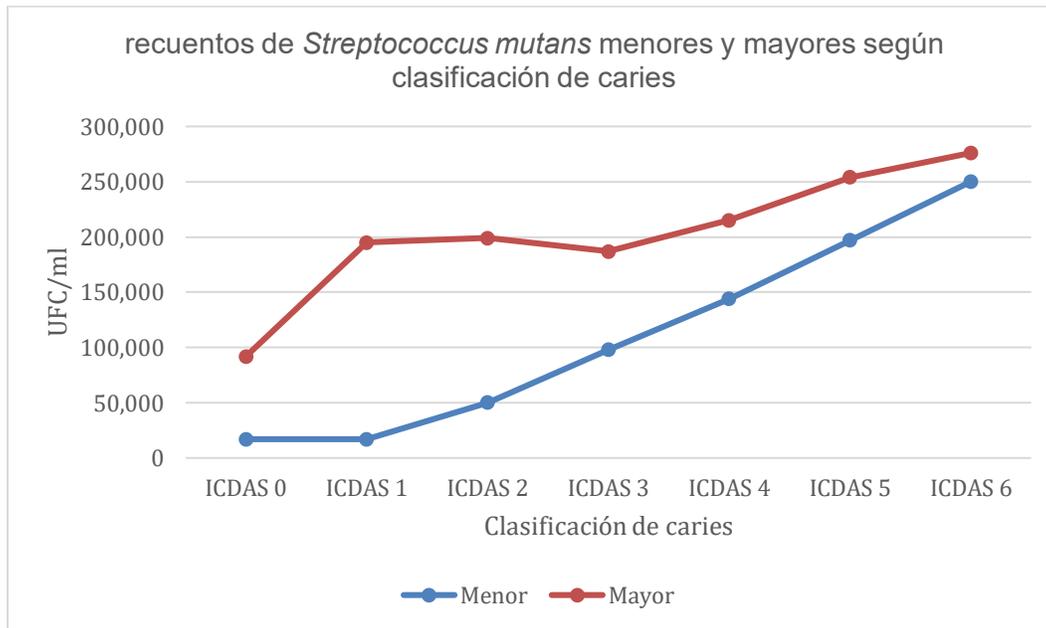


Tabla no. 7 recuentos de *Streptococcus mutans* menores y mayores según clasificación de caries

Clasificación de caries	UFC/ml de <i>Streptococcus mutans</i>	
	Menor	Mayor
ICDAS 0	17,000	92,000
ICDAS 1	17,000	195,000
ICDAS 2	50,000	199,000
ICDAS 3	98,000	187,000
ICDAS 4	144,000	215,000
ICDAS 5	197,000	254,000
ICDAS 6	250,000	276,000

Gráfica no. 6 recuentos de *Streptococcus mutans* menores y mayores según clasificación de caries



DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Una importante diferencia es notable en la concentración de *Streptococcus mutans* en saliva en pacientes con clasificación de caries ICDAS 0 hasta progresar a ICDAS 1, como se demuestra en la tabla no. 1. No siendo así en las siguientes clasificaciones en donde los recuentos promedios no se diferencian tanto entre sí, demostrando que la progresión de caries con relación a la concentración de *S. mutans* en saliva no es tan lenta posterior al establecimiento de una lesión primaria.

Se demuestra una correlación positiva entre la concentración de *Streptococcus mutans* en saliva y la severidad de caries, viéndose en torno a toda la población del estudio independiente de edad y sexo, como se demuestra en las gráficas no. 2 y no. 3. El promedio de UFC/ml de *S. mutans* demostrado en las diferentes clasificaciones de caries tiende a aumentar según la severidad de la lesión alrededor de toda la población del estudio. Según la tabla no. 2, los recuentos en la misma clasificación de caries son parecidos para todos los grupos de edad.

La tabla No.3 demuestra que los promedios de UFC/ml de *Streptococcus mutans* se mantienen similares entre los grupos de edad y la severidad de caries. Los recuentos según la progresión de caries demuestran una correlación positiva, como se demuestra en la gráfica no. 2, teniendo un aumento progresivo en las UFC/ml en torno a todos los grupos de edad mientras el ICDAS también va en aumento.

En promedio según la tabla no. 4 los hombres sometidos al estudio son más propensos a sufrir de caries más avanzadas y con un recuento de *S. mutans* mayor. Por el contrario, las mujeres tienden a tener recuentos superiores en clasificaciones menores como lo son ICDAS 1 y 2.

La mayor cantidad de población se encuentran en la clasificación de caries ICDAS 2 y 3, al observar la tabla No. 6 donde se describe detalladamente que el sexo femenino predomina con un 56% en donde la mayor cantidad de pacientes se encuentran en la clasificación ICDAS 2 con un total de 36 pacientes. Pocos pacientes se presentan a la

clínica Sonrisas Por Siempre con clasificaciones de ICDAS 5 y 6, representando únicamente el 7% de la población del estudio.

La gráfica no. 4 y la tabla no. 5 indican la demografía de los pacientes que atienden a la clínica Sonrisas Por siempre según su grupo de edad. Siendo el grupo de 21 a 30 el más prominente, representando el 35% de la población; seguido del grupo de 31 a 40 años con el 21%. Los grupos con menor población incluyen todos los de 51 hasta 100 años, representando el 8% de la población.

En la gráfica no. 6 se puede observar el comportamiento de los recuentos menores y mayores de *Streptococcus mutans* a través de las diferentes clasificaciones de caries. Se demuestra un aumento en ambos recuentos según el aumento de severidad de caries. Lo que es compatible con lo observado en las tablas no. 2, 3 y 4, demostrando éstas los recuentos promedios que tienen el mismo comportamiento en todas las clasificaciones de caries, grupos de edad y sexo.

CONCLUSIONES

El objetivo general de este trabajo de tesis era el de demostrar que la concentración de *Streptococcus mutans* en saliva está relacionada positivamente con la progresión de caries en alguna pieza dental. Lo cual fue demostrado de manera comparativa con pacientes de diferentes edades, sexo y clasificaciones de caries. Un recuento mayor de unidades formadoras de colonias de *S. mutans* por mililitro en la saliva del paciente se correlaciona con una lesión cariosa más progresada en al menos una pieza dental, indiferentemente de otras lesiones de menor gravedad en las otras piezas.

El aislamiento de *Streptococcus mutans* a partir de muestras de saliva es posible tanto en pacientes sin caries, como en aquellos con caries con mayor progresión.

Utilizando muestras de saliva y la técnica de siembra con asa calibrada es posible realizar una cuantificación de UFC/ml de *S. mutans* en agar selectivo *Mitis Salivarius*, permitiendo así realizar los recuentos de colonias. Se puede señalar que la metodología implementada en el estudio permitió la detección e identificación de *S. mutans* directamente a partir de muestras de saliva, y que esta es una gran herramienta con gran potencial para la realización tanto de análisis clínicos como epidemiológicos.

La relación positiva entre la concentración de *S. mutans* en saliva y la clasificación de caries se mantiene en toda la población. Teniendo diferentes recuentos promedios según la clasificación que van en aumento paralelamente. La población del estudio incluye pacientes de diferentes edades, sexos y con diferentes clasificaciones de caries. A pesar de esto, se logra identificar un comportamiento solar en cuanto la concentración de *S. mutans* y su aumento según la progresión de la lesión cariosa.

RECOMENDACIONES

Dentro de las recomendaciones desde el punto de vista metodológico, se incluyen: realizar este estudio incluyendo otros microorganismos cariogénicos tanto en saliva como directamente de la pieza dental. Varios microorganismos contribuyen a la progresión de las caries, un estudio más completo puede medir la concentración de *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus sobrinus* para comparar contra la progresión de caries. De esta forma se podría observar algún comportamiento importante en la presencia de estos microorganismos según la clasificación de caries para un diagnóstico microbiológico más completo.

Nuevos estudios deben abarcar una mayor población o centrarse en poblaciones de interés como aquellas en edades de desarrollo o más avanzadas. Se recomienda realizar un estudio con pacientes que estén dentro de clasificaciones de caries más avanzadas con la finalidad de realizar una comparación más acertada de estos pacientes.

El diagnóstico microbiológico de por sí no constituye por el momento una herramienta utilizada en el ámbito odontológico por su tardanza en la entrega de resultados. Sin embargo, se contempla que una evaluación previa a la instalación de aparatos dentales, como lo es la ortodoncia, podría ser pronóstico del desarrollo de caries durante el tratamiento o posterior a este. Asimismo, puede ser indicativo de hábitos de higiene bucal en los pacientes con el fin de realizar un pronóstico del desarrollo de caries en piezas dentales permanentes.

ANEXOS



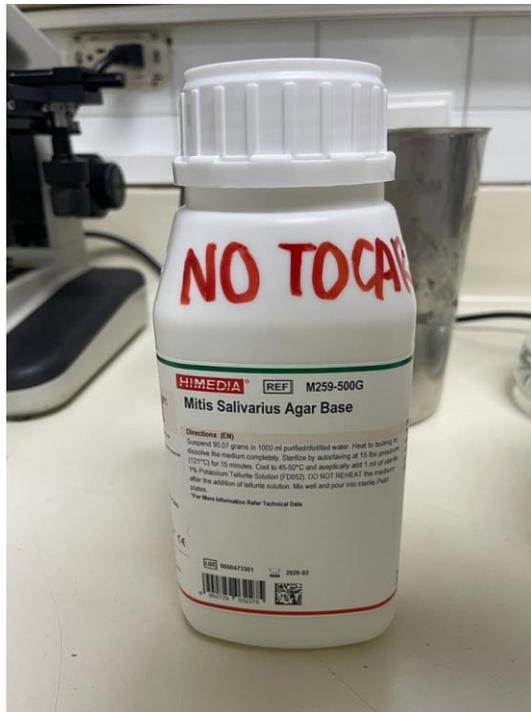
Anexo no. 1 suspensión para elaboración de agar Mitis Salivarius. Se utilizaron 45.05g de medio en polvo en 500ml de agua desmineralizada.

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras



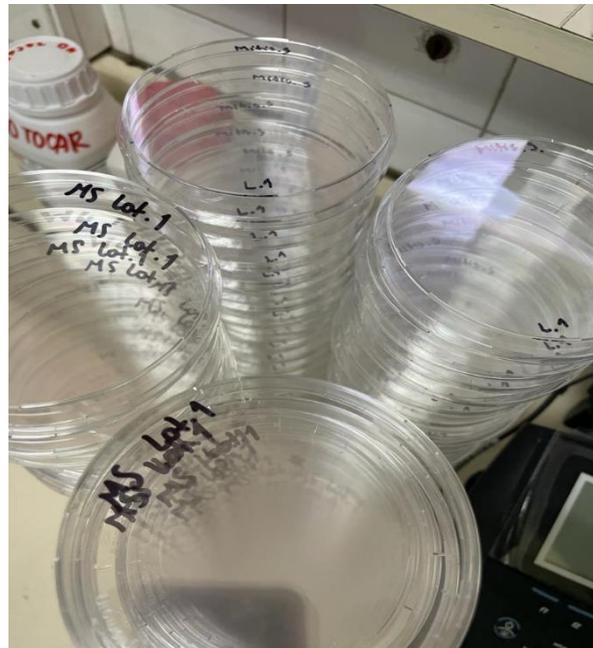
Anexo no. 2 elaboración de agar Mitis Salivarius. La suspensión se calentó hasta punto de ebullición en una plancha eléctrica.

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras



Anexo no. 3 agar Mitis Salivarius.

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras



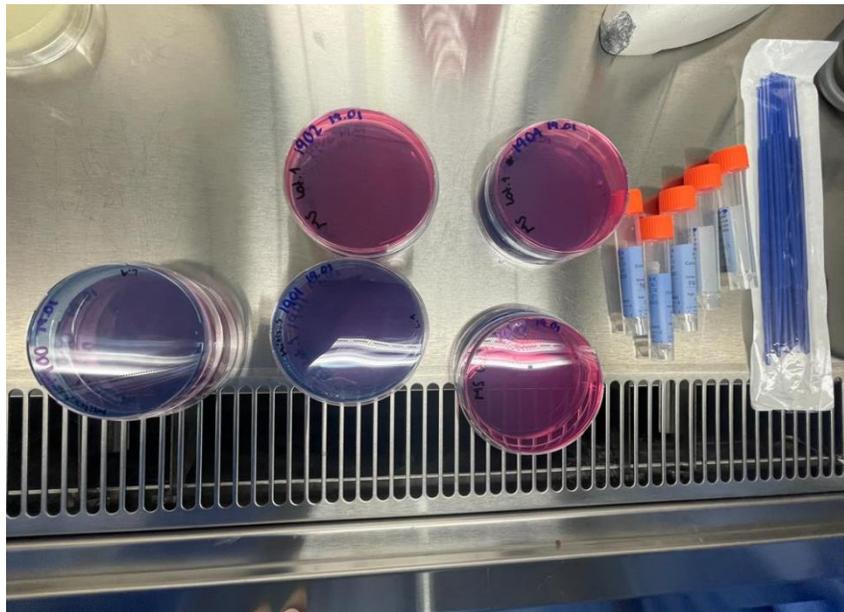
Anexo no. 4 identificación de cajas de Petri por lote. Se identificó cada lote realizado de agar *Mitis Salivarius* y agar Manitol Sal como método de control de calidad. Una caja de cada lote se dejó en incubación por 24 horas a 35°C para verificar que el medio fuera estéril.

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras



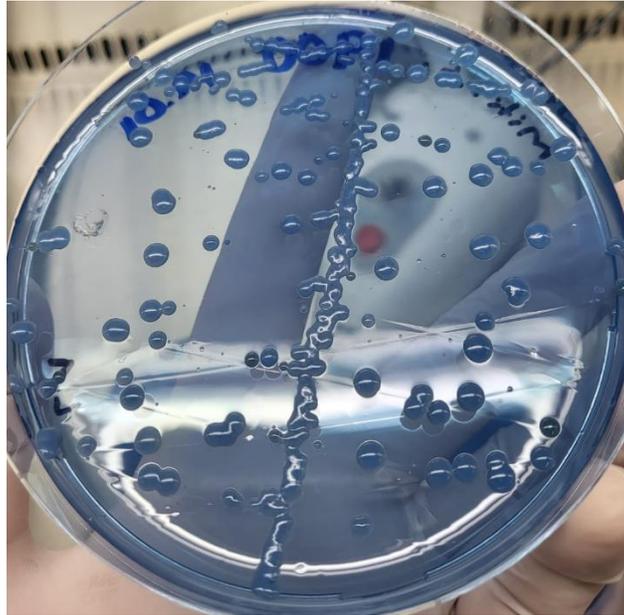
Anexo no. 5 servido de agar en cajas de Petri. Las cajas se llenaron a mano dentro de una campana de flujo laminar. Posteriormente se dejaron atemperar y se les aplicó dos ciclos de luz UV de 10 minutos cada ciclo.

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras



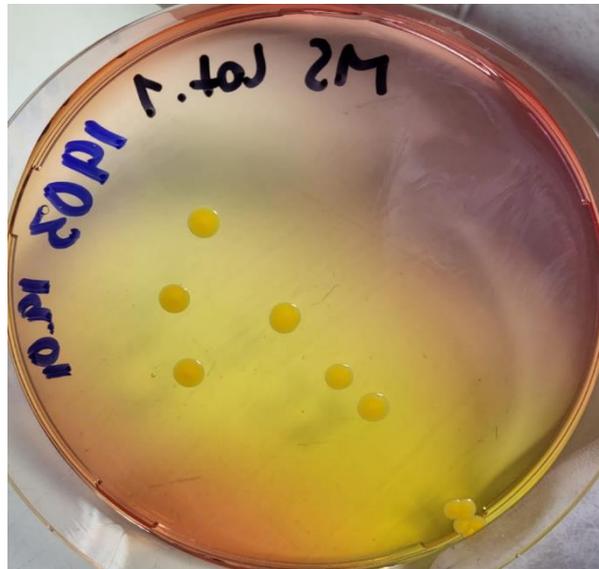
Anexo no. 6 materiales para siembra de muestras. Los tubos para muestra utilizados fueron tubos estériles para muestra de saliva, identificados con número de correlativo, sexo y edad del paciente. Se emplearon asas calibradas de 0.001ml desechables.

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras



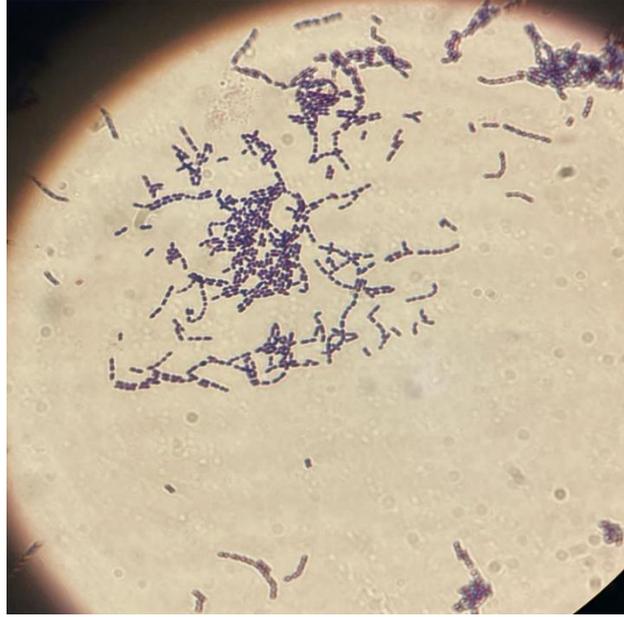
Anexo no. 7 crecimiento de colonias a partir de muestra de saliva en agar Mitis Salivarius.

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras



Anexo no. 8 crecimiento de *S. mutans* en agar Manitol Sal a partir de muestra de saliva en agar Mitis Salivarius.

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras



Anexo no. 9 cocos en cadena Gram positivo. Se realizó una tinción de Gram de las colonias que fueron re aisladas en agar Manitol Sal a partir del cultivo primario en agar *Mitis Salivarius*, demostrando la presencia de cocos en cadena Gram positivo, compatible con *S. mutans*.

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras

Carta de Consentimiento Informado

Por este medio hago constar que he sido invitado e informado a participar en la investigación científica denominada “*Correlación en la concentración de Streptococcus mutans y la severidad de las caries en pacientes de la clínica dental Sonrisas por Siempre, zona 18, Ciudad de Guatemala*”.

El objetivo de la investigación es realizar la recolección de la muestra de saliva en un medio de transporte para la conservación de la misma, de los pacientes delimitados, para posteriormente hacer uso de ello cultivando en condiciones óptimas a la bacteria responsable de la proliferación e indicar la clasificación.

Cabe destacar que en dicho estudio experimental no existe ningún riesgo que comprometa la salud de los voluntarios, ya que la obtención de la muestra no requiere de ningún proceso invasivo.

Me han indicado que el uso de dicha información es confidencial y no existirá una redistribución de información para investigaciones futuras, de tal forma se beneficiará de forma indirecta a la sociedad de la investigación que lleva a cabo el estudio. Asimismo, tengo el conocimiento de negar la participación o retirarme en cualquier etapa de esta. Por lo que sí acepto voluntariamente ser participe de este estudio y he recibido una copia del presente documento.

Firma participante _____

Anexo no. 10 ejemplo de consentimiento informado. Se entregó a todos los pacientes que participaron en la investigación

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras

Tabla no. 8 bitácora de pacientes y recuentos por fecha de siembra

FECHA de siembra	No. De paciente	Edad	Sexo	Clasificación de caries	RECUENTO EN PLACA
19/01/2022	1900	32	F	ICDAS 0	17,000
19/01/2022	1901	21	M	ICDAS 0	63,000
19/01/2022	1902	34	M	ICDAS 0	46,000
19/01/2022	1903	22	M	ICDAS 0	92,000
19/01/2022	1904	47	F	ICDAS 1	17,000
26/01/2022	1905	63	F	ICDAS 3	139,000
26/01/2022	1906	68	F	ICDAS 3	154,000
26/01/2022	1907	22	M	ICDAS 1	113,000
26/01/2022	1908	19	F	ICDAS 4	190,000
26/01/2022	1909	39	F	ICDAS 2	171,000
26/01/2022	1910	44	F	ICDAS 4	201,000
26/01/2022	1911	26	F	ICDAS 1	47,000
26/01/2022	1912	29	F	ICDAS 2	80,000
26/01/2022	1913	39	M	ICDAS 6	250,000
27/01/2022	1914	37	M	ICDAS 6	276,000
27/1/2022	1915	25	F	ICDAS 4	167,000
27/01/2022	1916	29	M	ICDAS 1	195,000
1/02/2022	1917	61	F	ICDAS 6	262,000
1/02/2022	1918	24	F	ICDAS 0	52,000
1/02/2022	1919	20	F	ICDAS 0	59,000
1/02/2022	1920	40	F	ICDAS 5	225,000
03/02/2022	1921	65	F	ICDAS 5	217,000
03/02/2022	1922	23	M	ICDAS 4	179,000
03/02/2022	1923	38	F	ICDAS 2	166,000
03/02/2022	1924	66	F	ICDAS 5	221,000
03/02/2022	1925	26	F	ICDAS 2	93,000
03/02/2022	1926	23	M	ICDAS 3	160,000
03/02/2022	1927	41	F	ICDAS 2	86,000
03/02/2022	1928	43	M	ICDAS 2	78,000
03/02/2022	1929	29	M	ICDAS 3	132,000
8/02/2022	1930	29	M	ICDAS 5	245,000
8/02/2022	1931	26	M	ICDAS 4	165,000
8/02/2022	1932	35	F	ICDAS 3	116,000

8/02/2022	1933	23	F	ICDAS 3	139,000
8/02/2022	1934	63	F	ICDAS 3	150,000
8/02/2022	1935	78	F	ICDAS 2	77,000
10/02/2022	1936	36	F	ICDAS 4	177,000
10/02/2022	1937	33	M	ICDAS 4	157,000
10/02/2022	1938	65	F	ICDAS 4	159,000
2/10/2022	1939	36	M	ICDAS 4	166,000
10/02/2022	1940	41	F	ICDAS 3	144,000
10/02/2022	1941	23	M	ICDAS 4	149,000
10/02/2022	1942	13	M	ICDAS 2	60,000
10/02/2022	1943	37	M	ICDAS 4	193,000
10/02/2022	1944	4	F	ICDAS 6	250,000
10/02/2022	1945	48	F	ICDAS 2	100,000
15/02/2022	1946	48	F	ICDAS 2	140,000
15/02/2022	1947	31	F	ICDAS 4	187,000
15/02/2022	1948	31	F	ICDAS 0	36,000
15/02/2022	1949	20	F	ICDAS 2	96,000
15/02/2022	1950	26	M	ICDAS 2	94,000
15/02/2022	1951	15	M	ICDAS 1	91,000
15/02/2022	1952	49	F	ICDAS 0	20,000
15/02/2022	1953	22	F	ICDAS 1	189,000
15/02/2022	1954	55	M	ICDAS 0	36,000
15/02/2022	1955	25	M	ICDAS 0	73,000
17/02/2022	1956	36	M	ICDAS 4	144,000
17/02/2022	1957	27	M	ICDAS 2	64,000
17/02/2022	1958	33	M	ICDAS 2	132,000
17/02/2022	1959	33	F	ICDAS 3	112,000
17/02/2022	1960	31	M	ICDAS 0	22,000
17/02/2022	1961	34	M	ICDAS 0	15,000
17/02/2022	1962	27	M	ICDAS 2	128,000
17/02/2022	1963	47	F	ICDAS 2	118,000
17/02/2022	1964	22	M	ICDAS 1	88,000
24/02/2022	1965	45	M	ICDAS 0	15,000
24/02/2022	1966	48	F	ICDAS 2	72,000
24/02/2022	1967	36	F	ICDAS 3	113,000
24/02/2022	1968	40	F	ICDAS 2	113,000
24/02/2022	1969	64	M	ICDAS 5	254,000

24/02/2022	1970	30	F	ICDAS 4	162,000
24/02/2022	1971	40	F	ICDAS 4	154,000
24/02/2022	1972	33	F	ICDAS 2	89,000
24/02/2022	1973	34	M	ICDAS 2	74,000
24/02/2022	1974	38	M	ICDAS 4	210,000
24/02/2022	1975	32	M	ICDAS 5	248,000
24/02/2022	1976	73	F	ICDAS 2	67,000
24/02/2022	1977	91	M	ICDAS 2	73,000
24/02/2022	1978	34	M	ICDAS 1	34,000
24/02/2022	1979	15	F	ICDAS 2	88,000
24/02/2022	1980	22	M	ICDAS 0	23,000
24/02/2022	1981	47	F	ICDAS 2	83,000
24/02/2022	1982	61	M	ICDAS 5	234,000
24/02/2022	1983	36	F	ICDAS 3	156,000
24/02/2022	1984	48	F	ICDAS 4	200,000
24/02/2022	1985	83	M	ICDAS 1	66,000
24/02/2022	1986	47	F	ICDAS 2	79,000
24/02/2022	1987	31	M	ICDAS 1	74,000
24/02/2022	1988	19	F	ICDAS 4	190,000
24/02/2022	1989	24	F	ICDAS 2	78,000
3/02/2022	1990	23	F	ICDAS 0	0
3/02/2022	1991	20	F	ICDAS 0	62,000
3/02/2022	1992	26	M	ICDAS 0	1,000
3/02/2022	1993	26	F	ICDAS 1	171,000
3/02/2022	1994	40	F	ICDAS 1	17,000
3/02/2022	1995	17	M	ICDAS 1	82,000
3/02/2022	1996	35	M	ICDAS 0	77,000
3/02/2022	1997	33	M	ICDAS 0	50,000
3/02/2022	1998	47	F	ICDAS 1	156,000
3/02/2022	1999	19	F	ICDAS 1	125,000
3/02/2022	2000	28	F	ICDAS 0	13,000
3/02/2022	2001	33	M	ICDAS 1	47,000
3/02/2022	2002	19	M	ICDAS 1	95,000
3/02/2022	2003	32	F	ICDAS 0	31,000
3/09/2022	2004	29	M	ICDAS 5	197,000
3/09/2022	2005	37	M	ICDAS 2	144,000
3/09/2022	2006	27	M	ICDAS 1	54,000

3/09/2022	2007	14	M	ICDAS 2	76,000
3/09/2022	2008	33	F	ICDAS 3	131,000
3/09/2022	2009	12	M	ICDAS 3	164,000
3/09/2022	2010	57	F	ICDAS 4	174,000
3/09/2022	2011	44	F	ICDAS 2	77,000
3/09/2022	2012	44	M	ICDAS 4	152,000
3/09/2022	2013	34	M	ICDAS 1	167,000
3/09/2022	2014	59	F	ICDAS 4	180,000
3/09/2022	2015	47	F	ICDAS 3	158,000
3/09/2022	2016	22	F	ICDAS 1	47,000
3/09/2022	2017	22	F	ICDAS 1	51,000
3/09/2022	2018	28	M	ICDAS 3	160,000
3/09/2022	2019	32	F	ICDAS 2	147,000
3/09/2022	2020	29	M	ICDAS 1	24,000
3/09/2022	2021	17	M	ICDAS 1	34,000
3/09/2022	2022	12	F	ICDAS 2	77,000
3/09/2022	2023	19	M	ICDAS 2	87,000
3/09/2022	2024	25	M	ICDAS 1	49,000
3/09/2022	2025	31	M	ICDAS 3	164,000
3/09/2022	2026	29	M	ICDAS 2	124,000
16/03/2022	2027	18	M	ICDAS 3	170,000
16/03/2022	2028	26	F	ICDAS 2	144,000
16/03/2022	2029	33	F	ICDAS 4	180,000
16/03/2022	2030	40	F	ICDAS 2	183,000
16/03/2022	2031	27	M	ICDAS 2	80,000
16/03/2022	2032	29	M	ICDAS 3	139,000
16/03/2022	2033	42	M	ICDAS 4	160,000
16/03/2022	2034	48	M	ICDAS 5	232,000
16/03/2022	2035	19	M	ICDAS 3	100,000
16/03/2022	2036	22	M	ICDAS 1	103,000
16/03/2022	2037	25	M	ICDAS 3	117,000
16/03/2022	2038	33	F	ICDAS 4	206,000
16/03/2022	2039	22	F	ICDAS 2	93,000
16/03/2022	2040	13	M	ICDAS 1	87,000
16/03/2022	2041	26	M	ICDAS 3	124,000
16/03/2022	2042	17	M	ICDAS 2	125,000
16/03/2022	2043	22	M	ICDAS 1	149,000

16/03/2022	2044	20	M	ICDAS 3	144,000
16/03/2022	2045	24	M	ICDAS 4	172,000
30/03/2022	2046	19	M	ICDAS 3	108,000
30/03/2022	2047	25	M	ICDAS 1	94,000
30/03/2022	2048	30	F	ICDAS 3	120,000
30/03/2022	2049	35	F	ICDAS 5	229,000
30/03/2022	2050	22	F	ICDAS 4	189,000
30/03/2022	2051	32	F	ICDAS 3	137,000
30/03/2022	2052	30	F	ICDAS 3	133,000
30/03/2022	2053	29	F	ICDAS 2	61,000
30/03/2022	2054	27	M	ICDAS 2	98,000
30/03/2022	2055	26	M	ICDAS 4	173,000
30/03/2022	2056	23	M	ICDAS 4	146,000
30/03/2022	2057	40	F	ICDAS 4	205,000
30/03/2022	2058	28	M	ICDAS 2	127,000
30/03/2022	2059	34	M	ICDAS 2	50,000
30/03/2022	2060	37	F	ICDAS 3	136,000
30/03/2022	2061	45	M	ICDAS 5	223,000
30/03/2022	2062	34	F	ICDAS 3	167,000
30/03/2022	2063	27	M	ICDAS 4	183,000
30/03/2022	2064	38	F	ICDAS 3	113,000
30/03/2022	2065	27	F	ICDAS 4	159,000
30/03/2022	2066	24	M	ICDAS 5	209,000
7/04/2022	2067	23	F	ICDAS 3	159,000
7/04/2022	2068	27	F	ICDAS 2	199,000
7/04/2022	2069	28	M	ICDAS 3	151,000
7/04/2022	2070	30	M	ICDAS 2	84,000
7/04/2022	2071	42	M	ICDAS 3	144,000
7/04/2022	2072	18	M	ICDAS 4	152,000
7/04/2022	2073	10	M	ICDAS 2	99,000
7/04/2022	2074	22	M	ICDAS 2	91,000
7/04/2022	2075	26	M	ICDAS 3	187,000
7/04/2022	2076	28	M	ICDAS 2	71,000
7/04/2022	2077	40	M	ICDAS 3	150,000
7/04/2022	2078	43	M	ICDAS 3	133,000
7/04/2022	2079	32	F	ICDAS 4	203,000
7/04/2022	2080	35	F	ICDAS 2	109,000

7/04/2022	2081	25	F	ICDAS 4	194,000
7/04/2022	2082	47	F	ICDAS 2	138,000
7/04/2022	2083	46	F	ICDAS 3	125,000
7/04/2022	2084	42	F	ICDAS 3	134,000
7/04/2022	2085	43	F	ICDAS 2	85,000
7/04/2022	2086	48	M	ICDAS 3	140,000
7/04/2022	2087	39	F	ICDAS 2	108,000
7/04/2022	2088	28	F	ICDAS 3	109,000
7/04/2022	2089	43	M	ICDAS 4	214,000
21/04/2022	2090	27	M	ICDAS 3	176,000
21/04/2022	2091	19	M	ICDAS 4	177,000
21/04/2022	2092	29	M	ICDAS 2	86,000
21/04/2022	2093	23	F	ICDAS 4	151,000
21/04/2022	2094	19	F	ICDAS 3	150,000
21/04/2022	2095	31	M	ICDAS 3	132000
21/04/2022	2096	37	M	ICDAS 4	187,000
21/04/2022	2097	50	F	ICDAS 4	193,000
21/04/2022	2098	62	M	ICDAS 5	228,000
21/04/2022	2099	10	M	ICDAS 3	127,000
21/04/2022	2100	17	F	ICDAS 2	83,000
21/04/2022	2101	8	M	ICDAS 4	178,000
21/04/2022	2102	13	F	ICDAS 3	115,000
21/04/2022	2103	20	M	ICDAS 3	123,000
21/04/2022	2104	18	M	ICDAS 2	95,000
21/04/2022	2105	33	F	ICDAS 4	167,000
21/04/2022	2106	55	M	ICDAS 3	98,000
21/04/2022	2107	13	F	ICDAS 3	104,000
21/04/2022	2108	41	F	ICDAS 4	203,000
21/04/2022	2109	29	F	ICDAS 3	181,000
21/04/2022	2110	27	M	ICDAS 2	147,000
21/04/2022	2111	41	F	ICDAS 2	107,000
21/04/2022	2112	36	F	ICDAS 3	171,000
21/04/2022	2113	38	F	ICDAS 3	137,000
21/04/2022	2114	43	F	ICDAS 2	95,000
21/04/2022	2115	36	F	ICDAS 4	210,000
21/04/2022	2116	39	F	ICDAS 2	166,000
21/04/2022	2117	40	F	ICDAS 3	158,000

21/04/2022	2118	47	F	ICDAS 2	101,000
21/04/2022	2119	40	M	ICDAS 3	145,000
17/05/2022	2120	37	M	ICDAS 3	161,000
17/05/2022	2121	19	F	ICDAS 1	148,000
17/05/2022	2122	25	M	ICDAS 3	115,000
17/05/2022	2123	22	F	ICDAS 3	101,000
17/05/2022	2124	35	M	ICDAS 2	110,000
17/05/2022	2125	29	M	ICDAS 3	119,000
17/05/2022	2126	18	M	ICDAS 3	136,000
17/05/2022	2127	26	M	ICDAS 2	67,000
17/05/2022	2128	30	F	ICDAS 3	127,000
17/05/2022	2129	24	F	ICDAS 4	215,000
17/05/2022	2130	22	F	ICDAS 5	224,000
17/05/2022	2131	35	M	ICDAS 3	123,000
17/05/2022	2132	30	M	ICDAS 4	179,000
17/05/2022	2133	28	F	ICDAS 3	116,000
17/05/2022	2134	26	M	ICDAS 3	153,000
17/05/2022	2135	17	F	ICDAS 4	172,000
17/05/2022	2136	23	F	ICDAS 2	132,000
17/05/2022	2137	34	M	ICDAS 3	148,000
17/05/2022	2138	18	M	ICDAS 3	141,000
17/05/2022	2139	27	M	ICDAS 1	186,000
17/05/2022	2140	63	M	ICDAS 2	87,000
17/05/2022	2141	13	M	ICDAS 3	169,000
17/05/2022	2142	17	M	ICDAS 2	123,000
17/05/2022	2143	14	M	ICDAS 1	123,000

Anexo no. 11 bitácora de pacientes y recuentos según fecha de siembra

Fuente: Datos experimentales obtenidos por investigadoras

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Montes, M., García-Arenzana, J. M. (2007). Género *Streptococcus*: una revisión práctica para el laboratorio de microbiología. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 25, 14-20.

Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., Brady, L. J. (2019). The biology of *Streptococcus mutans*. *Gram-Positive Pathogens*, 435-448.

Ojeda, J. C., Eliana Garcia, & Luis, S. (Junio de 2013). *Revista CES Odontología*. Obtenido de Scielo: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>

Matsumoto-Nakano, M. (2018). Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Japanese Dental Science Review*, 54(1), 22-29.

Sánchez, V. C., Ulloa, D. G., Rico, C. T., & Peña, L. A. (2016) *Perfil microbiológico de la microbiota faríngea, estudiantes de la facultad de medicina*. 141. Recuperado de: <https://www.juanncorpas.edu.co/wp-content/uploads/2021/02/CINVEST-2016-TRABAJOS-DE-INVESTIGACION.pdf#page=141>

Chávez Hidalgo, D. A. (2017). *EVALUACIÓN DEL EFECTO INHIBIDOR DE PASTAS DENTALES FRENTE AL Streptococcus Mutans ESTUDIO IN VITRO*. Recuperado de: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1027/TITULO%20-%20Chavez%20Hidalgo%2c%20Diego%20Andres.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Gamboa Jaimes, F. O. (2015). Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*: experiencias de investigación / Microbiological, Phenotypic, and Genotypic Characterization of *Streptococcus mutans*: Research Experiences. *Universitas Odontológica*, 33(71), 76-84. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.uo33-71.icmf>

Medigraphic. (2007, enero). *Streptococcus mutans en escolares de 6 y 11 años de edad*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revenfinfped/eip-2007/eip071c.pdf>
(Parra Huertas, 2010)

Fajardo, A. (2010). *Secuencia de una restauración con resina compuesta clase I*. COP.org. <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/KARINACECLILIASMATFAJARDO.pdf>

Parra Huertas, R. A. (2010, Junio 16). *Bacterias ácido lácticas: papel funcional en alimentos*. Scielo.org. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a12.pdf>

Perez, J. A., Estrada, D., & Gato, I. (2007, diciembre). *Asociación del Estreptococos mutans y lactobacilos con la caries dental en niños*. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072007000400002

Pauli, R., & Ugalde, T. (1958, Julio). *EL LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS EN LA FORMACION DE LA CARIES DENTAL*. <https://www.paho.org/Spanish/BOL/v45n1p17.pdf>

Búcaro Gómez, J.C. (2018) *Caracterización epidemiológica de la salud bucal en niños de 12 años de edad en escuelas nacionales, Guatemala 2015. Análisis secundario de la base de datos Facultad de Odontología, Universidad San Carlos de Guatemala FOUSAC-. Guatemala, 2018*. Tesis de posgrado

Sánchez, C. C. (2010). *Desmineralización y remineralización*. *Revista ADM*, 67 (1), 30-2. Recuperado de <file:///C:/Users/Patricia/Downloads/articulo%20de%20remineralizaci%C3%B3n.pdf>

Núñez, D. P., & García Bacallao, L. (2010). Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 9(2), 156-166. *Parte I. Características Microscópicas y Macroscópicas*. ISBN:0001-6365. Recuperado de: https://www.actaodontologica.com/ediciones/1999/3/lesion_inicial_caries.asp

Alvarado, M., Espinal, M., Hernández, W., & Orellana, J. (2003). Efectividad de los Fluoruros Tópicos en el Tratamiento de Remineralización de la Lesión Cariosa Incipiente. Obtenido de <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/7915/1/17100203.pdf>

Lemos, J. A., Quivey, R. G., Koo, H., & Abranches, J. (2013). Streptococcus mutans: a new Gram-positive paradigm?. *Microbiology (Reading, England)*, 159(Pt 3), 436–445. <https://doi.org/10.1099/mic.0.066134-0>

Arismendi, J. (s.f.). *Caries: nuevos conceptos*. Obtenido de <file:///C:/Users/Patricia/Downloads/23968-Article%20Text-91765-1-10-20150820.pdf>

Castellanos, J., Marín, L., Úsuga, M., Castiblanco, G., Martignon, S. (2013). La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. *Universitas Odontológica*, 32(69), 49-59. ISSN: 0120-4319. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=231240434004>

Merritt, J., & Qi, F. (2012). The mutacins of Streptococcus mutans: regulation and ecology. *Molecular oral microbiology*, 27(2), 57-69.

Núñez, Daniel Pedro, & García Bacallao, Lourdes. (2010). Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 9(2), 156-166. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000200004&lng=es&tlng=es.

Gil, M. d., González, G., & Loor, D. (20 de febrero de 2013). Nomenclatura e Instrumental Utilizado en Odontología. *UCV. Portal de Odontología Operatoria* Obtenido de: http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_odontologia/Imagenes/Portal/Odont_Operatoria/Nomenclatura_e_Instrumental..pdf

Mendoza, E. (2017). Clasificación de las caries. [Figura 2]. *Portafolio de DEBP*. Obtenido de :https://sites.google.com/site/portafoliodeeduardoupchfaest_/home/5-4-clasificacion-de-las-lesiones-cariosas

Criollo, J. (2020). Prevalencia de caries dental en escolares de 6 a 12 años de unidades educativas rurales y urbanas mediante el método ICDAS. *Trabajo de titulación previo a la obtención del Título de Odontólogo. Carrera de Odontología. Quito: UCE*. Obtenido de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/20540>

Fernández, A., García, C., Sáez, J. A., & Valdezate, S. (2010). *Métodos de identificación*. Obtenido de Procedimientos en Microbiología Clínica: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

Sieber, C. (2012). *Recuento de Streptococcus mutans en muestras de biofilm sobre dientes restaurados*. Obtenido de Trabajo de investigación, para optar al Título de Cirujano-Dentista: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/111754/sieber_c.pdf;sequence=1

Sieber, C. (2012). Características de los miembros del grupo *streptococci mutans*.
[Tabla 1] Recuperado de: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/111754/sieber_c.pdf;sequence=1

Fernández Pratts, M.J., Barciela González-Longoria, M.C., Castro Bernal, C., Vallard Jiménez, E., Lezama Flores, G., Carrasco Gutiérrez, R. (2008) Índices Epidemiológicos Para Medir La Caries Dental.