UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

CUANTIFICACIÓN DE STREPTOCOCCUS MUTANS EN SALIVA ESTIMULADA EN UNIVERSITARIOS, CUENCA – ECUADOR

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE ODONTÓLOGO

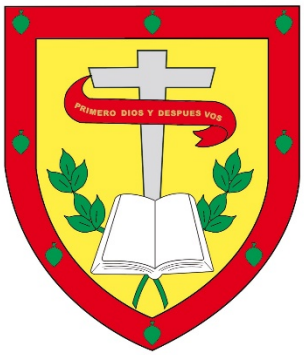
AUTOR: ANGIE NICOLE VELASTEGUÍ APONTE

DIRECTOR: OD. ESP. MAGALY NOEMI JIMÉNEZ ROMERO

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

CUANTIFICACIÓN DE STREPTOCOCCUS MUTANS EN SALIVA ESTIMULADA EN UNIVERSITARIOS, CUENCA – ECUADOR

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE ODONTÓLOGO

AUTOR: ANGIE NICOLE VELASTEGUÍ APONTE

DIRECTOR: OD. ESP. MAGALY NOEMI JIMÉNEZ ROMERO

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Cuantificación de Streptococcus Mutans en Saliva Estimulada en Universitarios, Cuenca – Ecuador

Quantification of *Streptococcus Mutans* in Stimulated Saliva in University Students, Cuenca – Ecuador

Velasteguí-Aponte Angie[2] , Jiménez Romero Magaly[1]

[1]Estudiante, Carrera de Odontología de la Universidad Católica de Cuenca. Cuenca (Ecuador).

ORCID: 0009-0002-7084-5220

angie.velastegui@est.ucacue.edu.ec

[2]Docente de la carrera de Odontología de la Universidad Católica de Cuenca. Cuenca (Ecuador)

ORCID:0000-0002-0736-6959

mjimenezr@ucacue.edu.ec

Resumen

Objetivo: Cuantificar la cantidad *S.mutans* en saliva basal y en saliva estimulada por diferentes agentes terapéuticos de gomas de mascar. **Materiales y métodos:** El estudio, de diseño experimental y longitudinal, recolectó muestras de saliva basal y estimulada tras masticar las gomas, analizando la cantidad de *S. mutans* mediante cultivo en Agar Mitis Salivarius. **Resultados:** Los resultados indicaron una disminución significativa en la carga de *S. mutans* en saliva estimulada comparada con la basal, sin importar el tipo de goma de mascar utilizada. La reducción de *S. mutans* demuestra que el aumento del flujo salival inducido por la masticación es clave para reducir la carga bacteriana y la placa presente en boca. **Conclusión:** El hecho de masticar goma de mascar es beneficioso para disminuir la carga de *S. mutans* y, por ende, puede ser una estrategia útil para la prevención de caries, complementando el cepillado dental habitual.

Palabras clave: Streptococcus mutans, saliva estimulada, goma de mascar.

Abstract

Objective: To quantify the amount of *S. mutans* in baseline saliva and saliva stimulated by different therapeutic agents from chewing gums. **Materials and Methods:** The study, designed as experimental and longitudinal, collected samples of baseline and stimulated saliva after chewing gums with sugar, without sugar, and with xylitol, analyzing the amount of *S. mutans* through culture on Mitis Salivarius Agar. **Results:** The results indicated a significant decrease in the load of *S. mutans* in stimulated saliva compared to baseline, regardless of the type of chewing gum used. The reduction of *S. mutans* demonstrates that the increase in salivary flow induced by chewing is crucial in reducing bacterial load and plaque in the mouth. **Conclusion:** The use of chewing gums is beneficial for decreasing the load of *S. mutans* and, therefore, can be a useful strategy for caries prevention, complementing regular tooth brushing.

Keywords: *Streptococcus mutans*, stimulated saliva, chewing gum.

1. INTRODUCCIÓN:

Las glándulas salivales cumplen una gran función a nivel oral, como por ejemplo secretar saliva, la cual es de tipo mixta, está compuesta por una mezcla de fluidos de los cuales el 93% proviene de las glándulas salivales mayores y el 7% restante de las menores, esta mezcla de fluidos contiene: líquido crevicular,

mucina, agua, sales, enzimas, proteínas y bacterias que conviven naturalmente en la cavidad oral. (1,2) En conjunto, permiten interacciones beneficiosas para la salud oral, contribuyendo a la autoclisis y capacidad buffer en la boca. Su consistencia puede ser líquida como viscosa, lo cual depende de la glándula que provenga. (3,4,5,6)

Al día se estima que la secreción de saliva oscile entre 500 y 1500ml y su volumen en boca sea de 1,1ml en una persona adulta sana. Mientras que, en reposo, la secreción de la misma puede estar entre 2,25ml/min y 0,35ml/min y frente a diferentes estímulos sensitivos o mecánicos puede aumentar hasta 1,5ml/min. (1,7,8) La saliva estimulada mendiante el uso de gomas de mascar ha demostrado resultados beneficiosos debido a que los chicles sin azúcar usan edulcorantes que previenen la aparición de caries ya que estimulan el flujo salival y contienen minerales que ayudan a la remineralización dental como es el flúor, calcio y fosfato, al igual que los chicles que contienen azúcar ayudan a la estimulación de saliva y neutralizan los ácidos producidos por las bacterias en boca, por ende ayudan a disminuir la carga bacteriana y consigo bajan el índice de caries dental.(9)

Existen sustancias incluidas en las gomas de mascar que presenta algunos beneficios como la de aumentar el flujo salival por lo que promueve la remineralización de las piezas dentales, no puede ser fermentado por las bacterias y contrarresta valores bajos en el pH salival. (10,11,12) Por otro lado, el biofilm dental que está presente en boca, se confroma por una diversidad de especies bacterianas acidógenas que se relacionan directamente con la presencia de caries dental, entre los que destaca el *Streptococcus mutans (S.mutans)*, dicha bacteria en conjunto con el *Lactobacillus* producen ácidos como resultado del metabolismo de carbohidratos y en conjunto de un entorno favorable pueden desmineralizar superficies dentales. (13,14,15,16)

Se puede encontrar una gran incidencia de *S. mutans* en la etiología de la caries dental, se ha demostrado una relación estrecha entre el número y la presencia de lesiones cariosas, el metabolismo de estos microorganismos es fermentativo por lo que producen ácido láctico. (25) En la actualidad, la cuantificación de *S. mutans* favorece el diagnóstico y selección de grupos con riesgo de caries. Valores superiores a 100 mil UFC/ml (Unidades formadoras de colonias por mililitro) de *S. mutans* en saliva, se considera como riesgo alto de caries y valores inferiores se considera como riesgo bajo. (17,18,19)

Existen diversos métodos propuestos para la cuantificación de microorganismos orales como, por ejemplo; cultivo en medios selectivos, pruebas bioquímicas, y reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR), ésta última presenta una alta sensibilidad, rapidez y especificidad, por lo que brindan eficacia en la detección y cuantificación de bacterias.(20,21) Por otro lado, la toma de muestras se debe efectuar mediante técnicas asequibles, sencillas, no invasivas, reproducibles, validadas y estandarizadas. (22,23)

El objetivo del presente estudio se enfocó en cuantificar la cantidad de *S.mutans* en saliva basal y en saliva estimulada por diferentes agentes terapéuticos de gomas de mascar.

2. METODOLOGÍA

El presente artículo de investigación se integra a un macroproyecto denominado “Efecto de gomas de mascar a base de xilitol, no azucaradas y azucaradas sobre el flujo y el ph salival en adultos jóvenes”, el cual fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad Católica de Cuenca, con el número **CEISH-UCACUE-2023-165**, efectuando los principios de la Declaración de Helsimki.

Estudio tuvo un diseño experimental y de corte longitudinal con el fin de cuantificar la presencia de microorganismos en saliva, antes y después de haber consumido tres tipos de gomas de mascar y un control.

Población y Muestra de estudio:

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia de los cuales se extrajo nueve replicas en cada grupo de las gomas de mascar y el control.

Citerios de inclusión: Se seleccionaron participantes entre 18 y 25 años de edad de la carrera de Odontología de la Universidad Católica de Cuenca, abarcando desde el primer hasta el décimo ciclo. Los participantes son hombres y mujeres, 20 órganos dentarios era lo mínimo para formar parte de la investigación.

Criterior de exclusión: Se excluyeron aquellos que presentaran enfermedad periodontal, caries, uso de medicamentos, enfermedades sistémicas, infecciosas o inflamatorias, uso de antibióticos o flúor en el último mes, así como consumidores habituales de productos y enjuagues bucales que contengan xilitol o sorbitol, aquellos con un flujo salival anormal (<1 ml/min), mujeres embarazadas, usuarias de píldoras anticonceptivas, o personas con hábitos dietéticos inusuales.

Variable dependiente: presencia de microorganismos y presencia en agar Mitis Salivarius de Streptococo Mutans.

Variable independiente: tiempo de salivación: saliva basal y saliva estimulada a los 30 minutos del consumo de las gomas de mascar (azúcar, sin azúcar, con xilitol y placebo).

Toma de muestras

Se realizó un examen clínico simple con ayuda de un set de diagnóstico y un frontoluz para corroborar que no presente lesiones cariosas activas, enfermedad periodontal o presencia de placa bacteriana, una vez corroborado esto se iniciaba tomando el registro de la masa corporal, después de colocar el gorro quirúrgico, se pidió que se enjuaguen con agua desionizada por 30 segundos y la desechen.

Se tomaron dos muestras de saliva. En el primer tubo falcon mediante un embudo estéril durante cinco minutos se pidió al participante que mantenga su cabeza inclinada hacia abajo y proceda a recolectar la saliva basal no estimulada por drenaje.

Posteriormente, se proporcionó la goma de mascar de manera aleatoria el mismo que masticó por 25 minutos. Luego de este periodo se procedió a recolectar la saliva estimuda en el segundo tubos falcon por cinco minutos. Al final se pidió que desechará la goma de mascar en el tubo. (24,25,26,27,28,29)

Luego, los tubos falcon fueron llevadas al laboratorio de microbiología en gradillas dentro de una caja transportadora, las muestras se agitaron en un vortex (VORTEX MIXER) durante 30 segundos, luego se realizó la dilución de la saliva, 1:10, 1:100 y 1:1000 y la sembramos en el medio de cultivo Agar Mitis Salivarius (MSA). A continuación, se incubaron a 35°C en condiciones de anaerofilia por 48 horas. Transcurrido este tiempo se procedió a contabilizar las unidades formadoras de colonias mediante un contador de colonias (ISOLAB). (30,31,32,33,34)

Análisis estadístico:

Los resultados recopilados se registraron en una ficha de recolección de datos en Microsoft Excel (versión 16.43). Para el análisis estadístico se utilizó el Programa Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales (SPSS v25).

Posteriormente, se verificó la normalidad de datos a través de la prueba Kolmogorov Smirnov. Se usó la prueba ANOVA para verificar las condiciones de similitud (recuento de *S.mutans*) de los participantes en la muestra basal. La prueba Kruskal-Wallis se utilizó para verificar diferencias dentro del grupo de las gomas de mascar en el intervalo de 30 minutos y se usó la prueba de Rangos de Wilcoxon para muestras relacionadas en la diferencia entre los intervalos de tiempo. El nivel de significancia fue $p<0,05$.

3. RESULTADOS

La población tuvo entre 18 a 25 años de edad, el promedio de los pacientes oscilaba los 22 años de edad.

En la **Tabla 1**, muestra el recuento de los microrganismos en la saliva basal y en la saliva estimulada se constató que la carga bacteriana disminuyó transcurridos los 30 minutos de haber masticado las diferentes gomas de mascar, así como el placebo.

Tabla 1. Comparación del recuento de microorganismos totales en la saliva basal y estimulada.

					95% IC para media	
Tiempo	n	Media	±DE	Mediana	Límite inferior	Límite superior
Saliva Basal	36	2283,89	1756,40	2155,00	1689,61	2878,17
Saliva Estimulada	36	907,86	825,73	1110,00	628,48	1187,25

En la **Tabla 2**, Se evidenció que hay disminución estadísticamente significativa entre el recuento de *S. mutans* en la saliva basal y en la saliva estimulada pasada los 30 minutos; así como en las diferentes diluciones.

Tabla 2. Recuento del *Streptococo Mutans* en diferentes intervalos de tiempo y diluciones.

					95% IC para media	
Tiempo		Media	±DE	Mediana	Límite inferior	Límite superior
Saliva Basal	BHI 10	3762,50	3434,18	2840,00	2600,54	4924,46
	BHI 100	22005,56	19875,04	18850,00	15280,81	28730,30
	BHI 1000	157093,33	182783,33	61500,00	95248,35	218938,31
Saliva estimulada	BHI 10	2153,83	2722,49	1595,00	1232,68	3074,99
	BHI 100	11633,89	10850,84	9300,00	7962,49	15305,29
	BHI 1000	72708,61	115803,43	15450,00	33526,37	111890,85

Comparación entre los intervalos de los dos tiempos

	BHI 10	BHI 100	BHI 1000
S. Basal – S. Estimulada	0,001*	0,001*	0,001*

Prueba de rangos de Wilcoxon para muestras relacionadas * $p < 0,05$.

En la **Tabla 3**, se evidenció que hay diferencia estadísticamente significativa entre el recuento de *S.mutans* en la saliva basal y en la saliva estimulada pasado los 30 minutos, sin importar el tipo de goma de mascar o placebo que consumió el paciente.

Tabla 3. Comparación del recuento del *S. mutans* en diferentes intervalos de tiempo y grupos de gomas de mascar

Tiempo	Grupos	n	Media	±DE	Mediana	p	Límite inferior	Límite superior
Basal	Control	9	2642,22	2005,63	2500,00	0.695 a	1100,56	4183,88
	Sin azúcar	9	1771,11	1093,63	1520,00		930,47	2611,75
	Xilitol	9	2117,78	2066,29	1400,00		529,49	3706,07
	Con azúcar	9	2604,44	1849,74	3360,00		1182,61	3706,07
30 min.	Control	9	1230,00	1083,36	1410,00	0,677b	397,25	2062,75
	Sin azúcar	9	840,00	725,52	1120,00		282,32	1397,68
	Xilitol	9	731,11	728,62	500,00		171,04	1291,18
	Con azúcar	9	830,33	766,94	1100,00		240,81	1419,86

Comparación entre intervalo de tiempo				
	Control	Sin azúcar	Xilitol	Con azúcar
Basal-30 min.	0,008*c	0,028*c	0,008*c	0,008*c

a Prueba de ANOVA, b Prueba Kruskal Wallis; c Prueba de rangos de Wilcoxon

* $p < 0,05$.

En la **Figura 1**, se puede observar que el recuento *de S.mutans* dismunuye pasados los 30 minutos de haber ingerido cualquiera de los 4 tipos de gomas de mascar, sin importar la composición de las mismas.

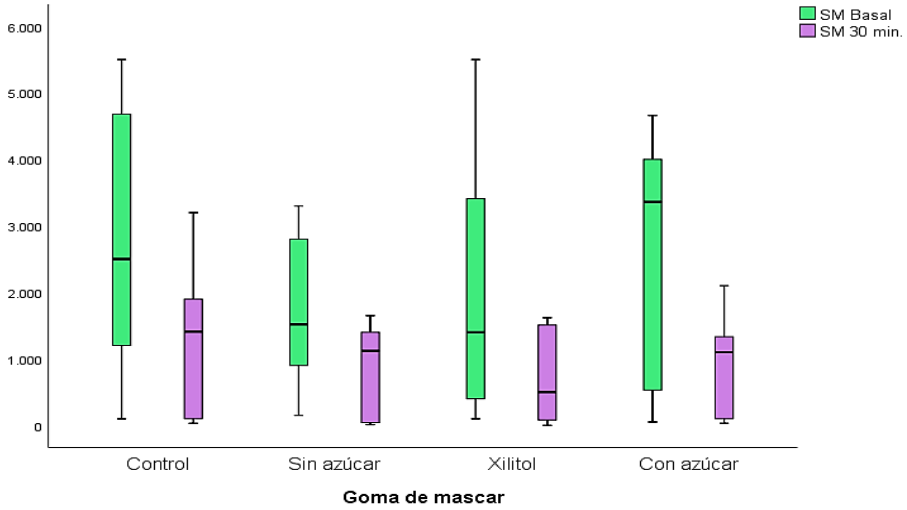


Figura 1. Diagrama de cajas y bigotes que como para la media de *S.mutans* en la saliva basal y en el intervalo de 30 min.

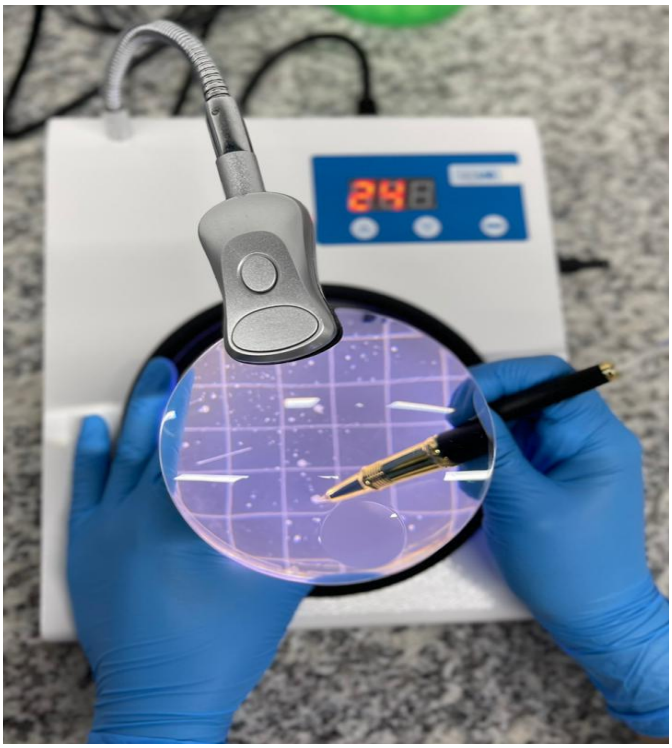


Imagen 1. Contador de colonias (ISOLAB)

4. DISCUSIÓN

La alteración o aumento de la microbiota oral en superficies dentarias pueden traer consecuencias como caries o formación de placa bacteriana, para eliminar dichas patologías es fundamental ejecutar una buena técnica de cepillado. (43) Sin embargo, no siempre se elimina por completo los microorganismos que producen patologías orales. Por ello, es importante facilitar alternativas que coadyuden a la prevención de estas patologías, una de ellas es el uso de gomas de mascar, ya que se ha comprobado que aumentan el flujo salival, mantienen un ph neutro y disminuyen la carga bacteriana presente en boca. (35)

Los resultados de la presente investigación evidenciaron que el uso de goma de mascar disminuye significativamente la carga bacteriana, lo cual es beneficioso para la salud oral ya que disminuye la probabilidad de formar placa bacteriana e incidencia de caries. Y demuestran que el simple hecho de masticar chicles aumenta el flujo salival contribuyendo a la autoclisis de la cavidad oral.

De igual manera se pudo evidenciar que influye más el hecho de masticar chicle, que el contenido de los mismos, ya sea que contenga; xilitol, azucar o sin azucar, coincidiendo con un estudio previo de Gomar V, (36) 9donde reportó que al estimular la saliva con chicles estériles de parafina la carga bacteriana encontrada en la saliva no estimulada fue tres veces mayor que la que se encontró en la saliva estimulada con parafina.

Del mismo modo, en el presente estudio se pudo reportar una disminución significativa de *S.mutans* el estimular la saliva mediante gomas de mascar, iniciando con una media de 2283,89 *S.mutans* en la saliva basal y finalizando con una media de 907,86 *S.mutans* 30 minutos despues de masticar la goma. Así como lo indicó Ribelles (37) en su estudio sobre “El papel que cumple el chicle en la prevención de la caries dental”, donde menciona que el hecho de masticar chicle aumenta el flujo salival, recuperando el pH, aumentando la capacidad buffer y de remineralización para llevar consigo la disminución de *S.mutans*.

A pesar que los resultados obtenidos en el presente estudio no mencionan una diferencia significativa el cuanto al tipo de goma de mascar para disminuir la carga bacteriana, sino, la acción mecánica de estimular la saliva con la goma es la que disminuye la carga bacteriana, existen diversos estudios como el de Apazza (38) publicado en el 2022 donde menciona que el uso de xilitol en diferentes concentraciones si posee un efecto ihibidor en el aumento de S.mutans. Sin embargo, Holgerson (39) et al, coincide con nuestro estudio ya que reportó que no existe diferencia significativa al consumir chicles con sorbitol o xilitol, pero el aumento de flujo salival debido a la estimulación de saliva en ambos grupos redujo la carga bacteriana.

Matthews (40) buscó una estrategia para la prevención de caries mediante la estimulación de saliva con el uso de gomas de mascar y llegó a la conclusión de que a pesar de los beneficios que brinda el estímulo salival con gomas de mascar como es la remineralización dental por los componentes de los chicles, la disminución de placa por la acción mecánica de la goma y el uso de xilitol, sorbitol y/o clorhexidina como edulcorante perjudicial para las bacterias, el efecto de las gomas de mascar es bajo o débil por si solo y para usarlo como estrategía en la prevención de caries, por ello, siempre debe ir acompañado de una buena técnica de cepillado y debe ser solamente un implemento en la rutina de higiene oral.

Holgerson *et al.* (41), repotó en su estudio que le uso de chicles con sorbitol o xilitol tienen la capacidad de producir mayor cantidad de saliva y reducir la placa bacteriana mediante su acción mecánica. Sin embargo, el uso de estos chicle puede llegar a alterar la microbiota oral. A pesar de ello, el uso de estos chiles pasadas 4 semanas redujeron significativamente la placa bacteriana, la presencia de *S.mutans*, no obstante, dicha dismunución bacteriana y de placa no se presentó en el grupo control. Lo que contradice los resultados presentados en nuestro estudio, ya que, en los resultados del presente estudio demostraron una disminución significativa (P=<0,05) incluso en el grupo control.

1. CONCLUSIÓN

Apoyándonos en los resultados obtenidos en esta investigación, podemos resaltar la importancia de el uso de alternativas terapéuticas como las gomas de mascar de cualquier tipo, con el objetivo de bajar la carga bacteriana a niver oral, favorecer la autoclisis, aumentar el flujo salival y consigo disminuir la incidencia de caries dental, placa bacteriana y otras patologías orales. Como se pudo constatar existe una gran cantida *S.mutans* en la cavidad oral incluso después del cepillado habitual, por lo cual el implementar estas medidas

terapéuticas para pacientes con alto índice de caries o que no implementan el cepillado después de cada comida beneficiaría gandemente para su salud oral. Se puede constatar que el simple hecho de masticar chicle disminuye la cantidad de *S.mutans* en boca.

5. BIBLIOGRAFÍA

1. Barrios C, Martínez S, Romero H, Achitte E. Revisión de la literatura Composición salival y su relación con caries dental en embarazadas. RAAO. 2020;1(62):8-12. Disponible en: https://www.ateneo-odontologia.org.ar/articulos/lxii01/articulo1.pdf
2. Barembaum S, Azcurra A. La saliva: una potencial herramienta en la Odontología. Revista de La Facultad de Odontología. 2019;29(2):9–21. Disponible en: https://doi.org/10.1111/ODI.1297
3. Castro R, Guzmán G, Giacaman R. Comparación de la concentración total de proteínas salivales de adultos y adultos mayores. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral. 2012;5(1): 25-28. Disponible en: http://dx.doi.org/10.4067/S0719-01072012000100005
4. Ticona R, Maquera L, Tuyo D, Huiza L, Barreda P, Ramirez E, Mamani A, Velarde R, Velarde A. Saliva: control nervioso, composición y función. Revista Médica Basadrina, 2021;15(1):67–74. Disponible en: https://doi.org/10.33326/26176068.2021.1.1035
5. Barrios C, Vila V, Encina A. La saliva, flujo y Ph en relación a la actividad cariogenica. Revista de la Facultad de Odontología. 2015;8(1):32-37. Disponible en: https://doi.org/10.30972/rfo.511715
6. Zaragoza M, Velasco J. La saliva. Rev de la facultad de medicina de la UNAM. 2018;34(1):7-35. Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/publicaciones/libros/Saliva.pdf
7. Llena C. La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. Med. Oral Patol Oral Cr Bucal. 2006; 11(5): 449-455. Disponible en: https://scielo.isciii.es/pdf/medicorpa/v11n5/en_15.pdf
8. Araneda I, Cortés P, González K, Martínez V. Medición de la cantidad de saliva en personas con enfermedad de parkinson y su impacto en la calidad de vida. Santiago, Chile: Universidad de Chile. 2011;13(1):13-34. Disponible en: https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/114902
9. Cornejo C, Salgado P, Molgatini S, Gliosca L, Squassi A. Saliva sampling methods. Cariogenic streptococci count using two different methods of saliva collection in children. Acta Odontol Latinoam. 2022;35(1):51–7. Disponible en: https://doi.org/10.54589/aol.35/1/51
10. Rodríguez G, Aguirre A. Efecto de una pasta dental con xilitol sobre el perfil salival en niños de cinco años. Artículo original. Revista Oral, 2020; 21(66): 1851-9. Disponible en: https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=114865
11. Hernández M, Meléndez W, Sandoval R, Navarrro V, Ibarra M. Niveles Streproccus mutans y Lactobacillus spp. en saliva después del consumo de leche con xilitol en niños. Oral. 2016;17(54):1370-1373. Disponible en: https://doi.org/10.54589/aol.35/1/51
12. Tabchoury C, Sousa M, Arthur R, Mattos R, Cury A, Cury J. Evaluation of genotypic diversity of Streptococcus mutans using distinct arbitrary primers. J Appl Oral Sci. 2008;16(6):403-7. Disponible en: https://doi.org/10.1590/s1678-77572008000600009
13. Sánchez L, Sáenz M, Irigoyen C, Luengas A, Tomasis G. Predicción de caries. Indicadores de riesgo en saliva y placa dental en niños sanos. Rev Mex Pediatr. 2006;73(3):112-118. Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2006/sp063c.pdf
14. Bustos C, Marfil M, Lanza N, & Guida N. Estudio de la capacidad productora de biofilm en Streptococcus equi subsp. equi. Revista Veterinaria. 2017;28(1):3–8. https://doi.org/10.30972/vet.2811289
15. Cruz S, Tapia G, Castañón C. Distribución de genes de adhesión y regulación de biofilm en Staphylococcus aureus. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 2016;50(4):713-720. Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53550527020
16. Ramos D, Brañez K. Streptococcus sanguinis y actinomyces viscosus bacterias pioneras en la formación del biofilm dental. Revista Kiru. 2016;13(2):181-186. Disponible en: https://api.semanticscholar.org/CorpusID:89880768
17. Muñoz L, Uribe A, Reyes M, Castro L, Rodríguez M. Salivary Streptococcus mutans colony-forming unit count in patients with and without orthodontic appliances. Acta Odontológica Latinoamericana. 2022;35(3):171–7. Disponible en: https://doi.org/10.54589/aol.35/3/171
18. Aguirre A, Aguirre A, Ríos T, Coronel F, Delgado E. Efectividad de un hidratante bucal con ácido málico/xilitol como terapia anticaries en niños. Universitas medica. 2022; 63(2):2-18. Disponible en: https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed63-2.bucal

19. Ojeda J, Oviedo E ,Salas L. "Streptococcus mutans y caries dental." CES odontol. 2013;26(1):44-56. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2013000100005&lng=en.
20. Sánchez D, Andrade C, Cuenca K, Orellana P. Sensibilidad y especificidad de pruebas moleculares en odontología.Rev ADM. 2021;78(2):90-94. Disponible en: https://dx.doi.org/10.35366/99284
21. Muñoz G, Zamora R, Román C, Huitzil E. Cuantificación de microorganismos asociados a caries antes y durante el uso de aparatos ortopédicos. Oral. 2013;14(45):1013-1016. Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2013/ora1345h.pdf
22. Rosado T, Hernández S, Rueda F, González E, Rodríguez M. Cuantificación de Streptococcus mutans, pH salival y dieta cariogénica en un grupo de escolares. Revista Odontológica Latinoamericana, 2021;13(2):25-30: Disponible en: https://www.odontologia.uady.mx/revistas/rol/pdf/V13N2p25.pdf
23. Yihong L, Saraithong P, Chen Z, Leung E, Pattanaporn K, Dasanayake A. Comparison of real-time quantitative PCR with a chairside test for Streptococcus mutans assessment. Chin J Dent Res, 2017; 20(4):199-210. Disponible en: https://doi.org/10.3290/j.cjdr.a39219 Linossier A, Valenzuela C, Soler E,
24. Contreras E. Colonization of the oral cavity by group mutans streptococci according to age assesed by a semi-quantitative method in saliva. Rev. chil. Infectol. 28(3):230-237. Disponible en: https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/165285
25. Salazar L, Vásquez C, Almuna A, Oporto G, Santana R, Herrera C, Sanhueza A. Detección molecular de estreptococos cariogénicos en saliva. Internacional J. Morfol. 2008; 26(4): 951-958. Disponible en: http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022008000400027.
26. Linossier A, Valenzuela C, Soler E, Contreras E. Colonization of the oral cavity by group mutans streptococci according to age assesed by a semi-quantitative method in saliva. Rev. chil. Infectol. 2011;28(3): 230-237. Disponible en: https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/165285
27. Lawrence J. "Aspectos clínicos de biología salival para el clínico dental." J Minim Interv Dent. 2008;1(1):5-23. Disponible en: https://www.miseeq.com/s-1-1-2.pdf
28. Arreguín J, Ríos C, Hernández C, Ostia M, Ventura J, Álvarez C, González Z, Gutierrez G. Caries dental y microorganismos asociados a la caries en la saliva de los alumnos del primer año de la Facultad de Odontología, UNAM. Rev. Odont. Mex. 2016;20(2):77-81. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.rodmex.2016.04.002.
29. Martínez D, Grajales O, Sánchez A, Rosales E, . Determinación del pH salival después de la aplicación de aceite ozonizado.. Rev ADM. 2024;81(1):16-20. Disponible en : https://dx.doi.org/10.35366/114742
30. Reviakina V, Panizo M. Transporte de muestras biológicas para su análisis en el laboratorio de microbiología. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 2019;39(1):4-14. Disponible en: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_vm/article/view/19215
31. Fraga C, Mayer M, Rodrigues C. Use of chewing gum containing 15% of xylitol and reduction in mutans streptococci salivary levels. Brazilian oral research. 2010;24(2):142–146. Disponible en: https://doi.org/10.1590/s1806-83242010000200003
32. Gamboa F, Plazas L, García D, Aristizabal F, Sarralde A, Lamby C, Abba M. Presence and count of S. mutans in children with dental caries: before, during and after a process of oral health education. Acta odontol. 2018;31(3):156-163. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30829371/
33. Schmidt J, Bux M, Filipuzzi J, Kulik E, Waltimo T, Weiger R, Clamens W. Influence of time, toothpaste and saliva in the retention of Streptococcus mutans and Streptococcus sanguinis on different toothbrushes. J Appl Oral Sci. 2014;22(3):152–8. Disponible en: https://doi.org/10.1590/1678-775720130017
34. Giacaman R, Muñoz C, Bravo E, , Farfán P. Cuantificación de bacterias relacionadas con la caries dental en saliva de adultos y adultos mayores. Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral. 2013;6(2):71-74. Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=331028622004
35. Verísimo M, Sousa M, Esteves R, Soares H, Almeida O, Costa F. Métodos para a redução do índice de Streptococcus mutans e Porphyromonas gingivalis na cavidade bucal: uma revisão narrativa da literatura. Research, Society and Development. 2020;9(11):2-17. Disponible en: DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10470
36. Gomar S. Estudio transversal de la microbiología salival mediante pirosecuenciación en escolares de la Comunitat Valenciana y su relación con la caries dental. Rev. Roderic. Valencia-España. [Tesis Doctoral] Universidad de Coruña. 2013. Disponible en: http://hdl.handle.net/10550/26191

37. Ribelles M, Bellet L, Mayné R, Guinot F. El papel del chicle en la prevención de la caries dental. Dialnet. 2006;14(2);52-59. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3536065

38. Apaza R, Asillo S, Padilla T, Mamani V, Catacora P, Apaza F. Efectos del xilitol sobre el crecimiento bacteriano contra Streptococcus sanguinis: estudio in vitro. Odontología. 2022; 24(40): e226. Disponible en: https://doi.org/10.22592/ode2022n40e226

39. Velásquez M, Narváez C. Efecto de Chicles con Xilitol sobre Placa Bacteriana, Flujo Salival y Capacidad Buffer de la Saliva en Adolescentes Chilenos. Int. J. Odontostomato. 2013; 7(1): 133-137. Disponible en: http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2013000100021

40. Matthews F. The use of sugar free chewing gum as a supplement in the prevention of dental caries. Narrative Review. J Oral Res 2015; 4(2): 129-136. Disponible en: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-779215

41. Holgerson P, Sjöström I, Stecksén C, Twetman S. Dental plaque formation and salivary mutans streptococci in schoolchildren after use of xylitol-containing chewing gum. Int J Paediatr Dent. 2007;17(2):79-85. Disponible en: https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2006.00808.x