



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR

CARRERA DE ODONTOLOGÍA

**GENES Y PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN LA
VIRULENCIA DE *Streptococcus mutans*: REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA.**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE ODONTÓLOGO.**

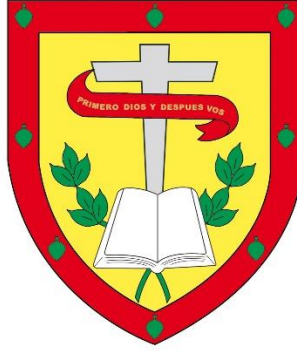
AUTOR: LESLY MISHEL GUADALUPE ROMERO.

DIRECTOR: QF. CARLOS FERNANDO ANDRADE TACURI.

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

**GENES Y PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN LA
VIRULENCIA DE *Streptococcus mutans*: REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA.**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE ODONTÓLOGO**

AUTOR: LESLY MISHIEL GUADALUPE ROMERO.

DIRECTOR: QF. CARLOS FERNANDO ANDRADE TACURI.

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Genes y proteínas involucradas en la virulencia de *Streptococcus mutans*: Revisión bibliográfica.

Genes and proteins involved in virulence of *Streptococcus mutans*: literature review.

Lesly Mishel Guadalupe Romero¹, Carlos Fernando Andrade Tacuri², Paola Patricia Orellana Bravo³.

1 Estudiante Carrera de Odontología. Universidad Católica de Cuenca. Cuenca - Ecuador.

lesllyguadalupemr@gmail.com.

<https://orcid.org/0009-0001-3996-4435>.

2 MSc. en Biotecnología Molecular. Unidad Académica de Salud y Bienestar. Carrera de Odontología, Laboratorio de Biología Molecular y Genética del Centro de Investigación Innovación y Transferencia de Tecnología de la Universidad Católica de Cuenca (CIITT). Grupo de investigación en genética y biología molecular de microorganismos. Cuenca - Ecuador.

candradet@ucacue.edu.ec.

<https://orcid.org/0000-0003-3983-1314>

3 MSc. en Biotecnología. Unidad Académica de Salud y Bienestar. Carrera de Odontología, Laboratorio de Biotecnología del Centro de Investigación Innovación y Transferencia de Tecnología de la Universidad Católica de Cuenca (CIITT). Grupo de investigación en genética y biología molecular de microorganismos. Cuenca - Ecuador.

porellana@ucacue.edu.ec.

<https://orcid.org/0000-0001-6276-0521>

Correspondencia: Lesly Mishel Guadalupe Romero. Cuenca-Ecuador. 010107.

lesllyguadalupemr@gmail.com.0983914734.

Resumen

Streptococcus mutans es una bacteria grampositiva, asociada con la caries dental. Se caracteriza por su habilidad para elaborar ácido láctico, metabolizar carbohidratos, perdurar en medios con pH bajo, contribuir a la formación de placa dental y daño en el esmalte. Entre los genes de virulencia más estudiados y que se han incluido en el presente trabajo, tenemos aquellos relacionados con la formación del biofilm y comunicación celular (*comA*, *comC*, *comD* y *comE*), adhesión a las superficies dentales (GTFs, *GbpA*, *GbpB*, *GbpC* y *GbpD*, *FTF* y *PAC*), producción de ácido (*gtfB*, *gtfC* y *gtfD*), tolerancia al ácido (*vicR* y *vicK*), entre otros. Además, se han descrito alguna de las proteínas más conocidas como las adhesinas, enzimas glucosiltransferasas y factores de virulencia. Finalmente, se ha incluido una breve revisión sobre la metodología de identificación molecular de este patógeno, mediante PCR. Comprender la genética y el metabolismo de *Streptococcus mutans* es esencial para elaborar estrategias eficaces para prevenir y tratar las caries dentales.

Palabras clave: *Streptococcus mutans*, Glucosiltransferasas, virulencia.

Abstract

Streptococcus mutans is a Gram-positive bacterium associated with dental caries. It is characterized by its ability to produce lactic acid, metabolize carbohydrates, persist in low pH environments, and contribute to dental plaque formation and enamel deterioration. Among the most studied virulence genes included in this work are those related to biofilm formation and cell communication (*comA*, *comC*, *comD*, and *comE*), adhesion to dental surfaces (GTFs, *GbpA*, *GbpB*, *GbpC*, and *GbpD*, *FTF*, and *PAC*), acid production (*gtfB*, *gtfC*, and *gtfD*), acid tolerance (*vicR* and *vicK*), among others. In addition, some of the most well-known proteins, such as adhesins, glucosyltransferase enzymes, and virulence factors, have been described. Finally, a brief review of the molecular identification methodology of this pathogen through PCR has been incorporated. Understanding the genetics and metabolism of *Streptococcus mutans* is essential for developing effective strategies to prevent and treat dental caries.

Keywords: *Streptococcus mutans*, Glucosyltransferases, virulence.

Introducción

La boca es el hogar de muchos microorganismos que aparecen después de la dentición.¹ La cavidad oral es un conjunto de tejidos conjuntivos donde se encuentran alrededor de 500 a 700 especies de bacterias formando un ecosistema, con sus funciones, interacciones y propiedades.¹⁻³ Cuando el ecosistema oral se encuentra en equilibrio se conoce como eubiosis y si se rompe este equilibrio se conoce como disbiosis.^{2,4} Algunas bacterias pueden invadir las mucosas y los dientes, formando así la placa bacteriana, en la que está presente *Streptococcus mutans*.¹⁻³ Por lo tanto, cuando los instrumentos dentales como las turbinas entra en contacto con la boca, deben de ser esterilizados previamente al uso con otro paciente, para así evitar la contaminación e infección por distintos microorganismos.⁵

La caries dental es una patología infecciosa que implica múltiples causas, generalmente resulta en el deterioro de la estructura de los dientes y puede ser crónica, delimitada y permutable. Se describe dos fases en consecuencia de labiotransformación de las bacterias en el diente, desmineralización y remineralización, que a lo largo del tiempo puede provocar una disminución de minerales y en última instancia, pero no siempre, conducir a la caries dental. Este microorganismo, además puede causar bacteriemia, infección sistémica y endocarditis subaguda originadas en procedimientos dentales.^{6,7}

La clínica dental podría encontrarse contaminada con microorganismos como bacterias, virus y hongos diseminados a través de aerosoles generados principalmente por la turbina, micromotor, instrumentos y equipos dentales, por lo que pondría en riesgo la salud tanto del paciente como del odontólogo.^{8,9} Por ello, se han desarrollado estándares de bioseguridad para combatir la contaminación cruzada entre: docentes, estudiantes, pacientes y/o trabajadores del establecimiento. Por lo tanto, es extremadamente importante mantener las superficies, instrumentos y fómites, limpios y libres de contaminación.^{4,8}

Streptococcus mutans (*S. mutans*) es un coco que da positivo a la tinción de Gram, aerobio facultativo, acidófilo, acidogénico, y acidurico, cuyo hábitat natural es la boca humana, el cual es primordial para la presencia y evolución de procesos cariosos.^{1,6,10} Su virulencia está relacionada con la competencia para metabolizar una diversidad de azúcares, cuyo resultado es la generación de ácido láctico con la consecuente disminución del pH del medio, en el cual *S. mutans* puede vivir sin ningún problema. Cuando se sintetizan los glucanos y fructanos, tiene la virtud de unirse al esmalte de los dientes, que viene a ser otra característica igualmente importante.¹⁰

Un polisacárido es sintetizado por *Streptococcus mutans* a través de glicosiltransferasas (*GFTs*) que son unas enzimas que constituyen los factores de virulencia para dar inicio a la caries. Las glicosiltransferasas según su solubilidad se encuentran clasificadas como: *GTFB*, *GTFD* y *GTFC*, la cuales se encuentran relacionadas con el nombre que se le da al gen que codifica para cada enzima.^{11,12}

Se han descrito siete especies y ocho serotipos de *Streptococcus* cariogénicos: “*Streptococcus cricetus* (serotipo a), *Streptococcus rattus* (serotipo b), *Streptococcus mutans* (serotipos c, e, f y k), *Streptococcus sobrinus* (serotipos d y g), *Streptococcus downei* (serotipo h), *Streptococcus ferus* (serotipo c), y *Streptococcus macacae* (serotipo c)”. Siendo el serotipo c el más habitual.^{1,10,13}

En periodontitis, existen tres patógenos especialmente involucrados con la devastación periodontal: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, y *Porphyromonas gingivalis*. Por lo tanto, las tres especies más comúnmente relacionadas con patologías dentales son *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*.^{4,14}

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en junio del 2019 ha presentado un artículo, en el que señala que la caries está presente en casi el 100% de adultos estudiados y entre el 60 a 90% de los menores de edad, mientras que la Federación Dental Internacional (FDI) anuncia un 44%. Como consecuencia, la calidad de vida de estos individuos se ve afectada negativamente por el dolor y el desgaste funcional, debiendo acudir en busca de atención odontológica, la cual en los países más desarrollados es muy costosa y muchos seguros de salud privados no cubren todos estos egresos que pueden ser evitados mediante el uso de hábitos preventivos y saludables.^{15,16}

Revisión de la literatura

1. *Streptococcus mutans* formación de biopelícula

La biopelícula que genera *S. mutans* en los dientes se llamada placa y está formada principalmente por un adhesivo de glucano sintetizado a partir de la sacarosa, mediante las glicosiltransferasas (*GTP*). La proteína Gbp por un alto enlace a glucanos que estimula la adherencia. *PAC* es fundamental para *S. mutans*, ayuda en la adhesión de bacterias en las piezas dentales por medio de la saliva. Estas dos proteínas forman la placa que causa la caries.¹⁷

2. Formación de biofilm y comunicación celular

Los genes y proteínas que intervienen en la formación y comunicación celular son: *comA*, *comC*, *comD* y *comE* (*comACDE*), *sgp* y *dgk*.

***comA*, *comC*, *comD* y *comE* (*comACDE*):** codifican para proteínas involucradas en la comunicación celular y la formación de biofilm. Son mutantes nulos presentes en el genoma de *S. mutans* UA159, fueron creados por intercambio alélico por medio de la implantación de resistencia a la eritromicina.^{18,19}

***sgp*:** es un gen que codifica para una proteína reguladora (SGP) participa en la viabilidad y crecimiento de *S. mutans*, además de responder al estrés ambiental y por ende participa en la formación del biofilm.¹⁸

***dgk*:** este gen codifica para una quinasa (Dgk) relacionada con la producción de mutacina II y presuntamente involucrada en la transducción de señales en la formación del biofilm, además de responder al estrés ambiental.¹⁸

3. Genes y proteínas involucradas en la adhesión

Los genes y proteínas permiten a la bacteria adherirse a la superficie dental y formar biopelícula.¹⁰

3.1 Glucosiltransferasas (GTFs): son enzimas involucradas en la síntesis de la matriz de glucosídica que forma la placa dental. La actividad en la película dental ayuda en la elaboración de glucanos, llegando a formar sitios de unión para los microorganismos orales. Además, participan en la elaboración de placa.¹

Se evidencia 3 tipos de *GTF* (*GTFB*, *GTFC*, *GTFD*) producidas por *S. mutans*, imprescindibles para la adherencia de bacterias dependientes de la sacarosa.^{10,17}

GTFB y *GTFC*, sintetiza glucanos insolubles en agua que están ubicados en la superficie celular, cifradas por los genes *gtfB* y *gtfC* respectivamente. Al sintetizarlos de forma conjunta, mejora la adhesión de las bacterias a los dientes formando biopelículas de mayor dureza.¹⁷

GTFD, sintetiza glucanos solubles en agua, ubicadas en el sobrenadante del cultivo codificada por el gen *gtfD*.¹⁷

Cada enzima está constituida por 2 dominios funcionales:

- Dominio catalítico (*CAT*), une e hidroliza el sustrato de sacarosa.
- Dominio de unión a glucanos (*GBD*), acepta el enlace de glucanos y establece la condición de glucanos sintetizado por un *GTF*.¹⁷

La interacción de ciertos Gbps (Glycan Binding proteins) con otros microorganismos orales preserva la forma tridimensional de las biopelículas reglando su desarrollo.¹⁷

3.2 Proteínas de unión a glucano: la conexión de *S. mutans* con los glucanos se realiza por la enzima *GTF* acompañadas por proteínas de unión a glucano (*Gbps* por su nombre en inglés), este último produce alrededor de 4 proteínas (*GbpA*, *GbpB*, *GbpC* y *GbpD*) que estimulan la adhesión.¹⁷ Estas proteínas actúan como medio de agrupación entre el medio extracelular y la superficie de la célula.¹⁰

3.2.1 *GbpA*: es la primera proteína que se une a los glucanos y favorece su unión con el diente, promoviendo el desarrollo de la placa dental y caries. Su función es conectar proteínas y polisacáridos durante el desarrollo de biopelículas fuertes y estables. Un error en su función genera una unión frágil a la matriz de Sustancias Poliméricas Extracelulares (EPS), lo que da como resultado una biopelícula frágil.¹⁷

3.2.2 *GbpB*: uno de los posibles culpables del desarrollo de caries por *S. mutans*, se une a los polisacáridos que se producen durante la síntesis del biofilm dental. A pesar de que su similitud con hidrolasas de peptidoglucano de otras bacterias Gram positivas es sumamente alta y el análisis genético de la región *GbpB* sugieren una relación funcional entre los genes que intervienen en la forma celular y el mantenimiento de la pared celular.¹⁷

3.2.3 *GbpC*: es la proteína que recibe a los glucanos en la superficie celular y se adhiere dependiendo de la cantidad de sacarosa. Funciona como un anclaje a la pared celular con un dominio de enlace específico para glucanos solubles (*GTFD*).¹⁷

3.2.4 *GbpD*: fue identificada mediante análisis de secuencias de la cepa UA159 de *S. mutans* como una *Gpb* con actividad lipasa que ayuda en la adhesión en las superficies y es similar a *GbpA*.¹⁷

3.3 Fructosiltransferasas (*FTFs*): son enzimas que catalizan la transferencia de un residuo de fructosa de un sustrato a otro, lo que resulta en la formación de fructooligosacáridos (FOS) y otros compuestos relacionados. Estas enzimas son elaboradas por varios organismos, incluyendo bacterias, hongos y plantas. Son importantes en la elaboración de la placa y la caries, ya que utilizan los azúcares presentes en la boca producidos por FOS, que pueden adherirse a los dientes y proporcionar un sustrato para crecimiento bacteriano.²⁰ A partir de la sacarosa, sintetizan polímeros de fructano, los cuales trabajan como medios de unión en la acumulación

bacteriana.¹⁰

Para distinguir molecularmente a *S. mutans* los genes más utilizados son: *gtfB*, *ftf* y *gfpB*.²¹

3.3.1 *spaP*: no se adhiere in vitro, y están en menor relación con la formación de las caries y se piensa que estaría regulado por una proteína inducible.²¹

3.4 Proteína antígeno c: llamada también como SpaP, Ag I/II y B, IF, P, SR, SpaA, PAC y MSL-1. Es una de las principales proteínas de *S. mutans*, esta codificada por el gen *spaP*, participa inicialmente en la unión de *S. mutans* al diente, es conocida por que su adherencia también puede no depender de la presencia de la sacarosa. Está relacionada con la virulencia para el progreso de la caries interactuando con la saliva, la interacción con PAC ayuda en la elaboración de placa y el establecimiento de bacterias en la dentina, su tamaño varía entre 140 a 180 kDa.^{10,17,21-23}

El gen PAC con virulencia de *S. mutans* apoya en el desarrollo de endocarditis infecciosa (EI). PAC, está unida de primera mano a las plaquetas lo que facilita la agregación plaquetaria en las personas.^{17,22}

4. Quorum sensing

Es un sistema de comunicación celular que utilizan algunas bacterias para comunicarse entre sí y coordinar su conducta que se adecua a la densidad poblacional bacteriana. Estas bacterias producen y liberan moléculas de señalización llamadas autoinductores, que se acumulan en el ambiente y van incrementando con la densidad de población. Cuando la concentración de autoinductores alcanza un umbral crítico, las bacterias detectan la señal y pueden activar o desactivar genes específicos para coordinar su comportamiento colectivo, como la formación de biofilms, la producción de toxinas o la conjugación bacteriana. El quorum sensing es importante en muchos procesos biológicos, incluyendo la patogenicidad, la simbiosis, la degradación de sustancias y la formación de comunidades microbianas.^{19,24,25}

S. mutans sintetiza dos señales de detección de quórum (QS), péptido inductor de competencia (CSP) y péptido inductor sigX (XIP) que se detectan a través de un sistema de señales de dos componentes (ComDE) y un regulador transcripcional intracelular de tipo Rgg (ComR), respectivamente. Tras la activación de ComR a través de la unión de XIP, se induce la transcripción del factor sigma alternativo SigX. Recientemente mostramos que CSP controla solo la transcripción de mutacinas, por lo que sugerimos cambiarle el nombre a péptido inductor de mutacina (MIP). Por lo tanto, SigX es el regulador central de QS en *S. mutans*. No se sabe si *sigX* se expresa in vivo. Además, se desconocen las condiciones naturales bajo las cuales se sintetiza MIP.^{25,26}

5. Producción de ácido

Streptococcus mutans elabora ácido láctico, propiónico, acético y fórmico, mediante la metabolización de la sacarosa, glucosa y fructosa. Estos ácidos desmineralizan el esmalte mediante la liberación de calcio y fosfato generada por los hidrogeniones que difunden a través de la placa dental. Los genes *gtfB*, *gtfC* y *gtfD*, codifican para enzimas relacionadas con la producción de ácido a partir de los carbohidratos presentes en la dieta.¹

6. Tolerancia al ácido

Para *S. mutans* es muy importante sobrevivir en un ambiente ácido debido a su metabolismo, aquí se describen algunos genes que participan en esta función.²⁷

6.1 F-ATPasa: durante el crecimiento a valores ácidos de pH *Streptococcus mutans* aumentan la producción de sus F-ATPasas. Al bombear protones fuera de las células, las enzimas ayudan a mantener los valores internos de pH. El pH idóneo de las enzimas es de aproximadamente 6 para *S. mutans*. Es decir, la ATPasa es probablemente una razón importante por la que *Streptococcus mutans* pueden resistir en estos ambientes y produzca la caries.^{3,27}

6.2 VicRK (vicR y vicK): codifican para proteínas involucradas en la virulencia y regulación de la expresión genética de gtfB/C, ftf y gbpB, genes relacionados con la producción de biofilm.²⁸

7. Proteína de unión a colágeno

Es un dominio de repetición B putativo, se une a colágeno y un motivo LPXTG anclado a la pared celular. La proteína *Cnm* tiene actividad de unión a colágeno tipo I, se cree que está involucrada en la infiltración de células endoteliales coronarias humanas que pueden contribuir a enfermedades cardiacas y se ha confirmado que está asociada con el deterioro funcional debido a hemorragia cerebral. Las cepas *Cnm* positivas tienen altas propiedades de unión a colágeno, especialmente los serotipos f y k, aunque no se encuentran en mayor cantidad en la boca.¹⁷

Existe otra proteína de unión a colágeno conocida como *Cbm*, reconocida en serotipos k y se cree que puede inducir a endocarditis infecciosa.¹⁷

8. SMU.759

Este gen constituyó de *S. mutans*, codifica para una enzima cuya actividad proteasa no ha sido claramente definida, pero que, posiblemente degrada el colágeno tipo I (colagenasa) después de la desmineralización del diente.²⁹

9. Proteínas de inmunidad de bacteriocina

La bacteriocina es un antibiótico peptídico, conocida como mutacina y es uno de los factores de virulencia más importante de *S. mutans*. Para controlar a este gen de bacteriocina, las bacterias utilizan TCST (Two-component signal transduction).¹⁷ Presentan dos tipos de bacteriocinas: lantibióticos y no lantibióticos que se describen a continuación:

Lantibióticos: son antibióticos que contienen lantionina, actúan en contra de las bacterias Gram-positivas y en las cepas no productoras de *S. mutans*. Posee péptidos que necesitan cambios postraduccionales para que puedan realizar sus funciones antibacterianas.¹⁷

No lantibióticas: hasta ahora se ha encontrado que son principalmente activos contra especies estrechamente relacionadas. Contiene péptidos que no requieren modificación para sus actividades biológicas.¹⁷

9.1 Bip: es una proteína de inmunidad a la bacteriocina localizada en la membrana, que se encuentra protegiendo de algunos agentes antimicrobianos y mejora la resistencia al estrés.¹⁷

10. Factores de virulencia de *Streptococcus mutans* involucrados en la generación de la caries dental

10.1 Acidogenicidad: *Streptococcus mutans* metaboliza el azúcar de la dieta generando como resultado ácido láctico. A consecuencia de la acumulación del ácido desciende el pH de la cavidad oral, provocando así la desmineralización del esmalte dental. Está íntimamente asociada con un método de transporte y un metabolismo rico en sacarosa.^{3,10,30}

10.2 Aciduricidad: *Streptococcus mutans* tiene la competencia de elaborar ácido y sobrevivir en un entorno de pH bajo, efectuando glucólisis en la matriz del biofilm, provocando así la desmineralización del esmalte vecino.^{3,10,30}

10.3 Acidofilicidad: *Streptococcus mutans* puede colonizar aéreas con pH ácido sacando protones (H⁺) de la célula, lo que mantiene más alcalino su medio interno. De esta manera sobrevive en un medio ácido donde muchas especies rivales que compiten por los sustratos no lo pueden hacer.^{3,10,30}

10.4 Síntesis de glucanos y fructanos: GTF y FTF son las encargadas de sintetizar los polisacáridos extracelulares (fructano y glucano) a partir de la sacarosa. Creando condiciones favorables para que las bacterias se adhieran al diente, además de servir como reservas de nutrientes.^{3,10,30}

11. Identificación molecular de *Streptococcus mutans*

11.1 Preparación de la muestra: en la identificación de *Streptococcus mutans*, se debe recolectar una muestra de la boca del paciente o de la superficie que se va estudiar, preferiblemente con una espátula plástica o depositando directamente la secreción salival en un tubo estéril conteniendo medio de cultivo selectivo líquido TYCSB (caldo). Si la muestra se tomara con espátula plástica se debería transferir a un medio de transporte o en un tubo con caldo de enriquecimiento (BHI o tripticosa soya) estéril para ser sembrada en un medio sólido.^{2,31}

11.2 Siembra en placa: la muestra se siembra en condiciones de anaerobiosis, en un medio de cultivo selectivo como “agar mitis salivarius” con bacitracina a 0,2 U/ml, además de sacarosa al 20 %. Se incuban a 37°C en condiciones de 95% de N y 5% de CO₂ por 24-48 horas, continuándose con 24-48 horas más en condiciones aerobias.^{1,2}

11.3 Evaluación de la morfología: Las colonias sospechosas de ser *Streptococcus mutans* se evalúan en cuanto a su morfología, estas son firmes de color blanco con bordes bien definidos, presentando gran adherencia al medio de cultivo.¹

11.4 Extracción de ADN

Método 1: Salazar et al. (2008) señalan que la extracción de ADN se debería realizar como se describe a continuación:³¹

- Centrifugar 1 ml de saliva por 15 minutos a 13400 rpm y eliminar el sobrenadante.
- Adicionar 200 µL de una solución de lisis compuesta por: Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, TritónX-100 al 1%, pH 8.0) y llevar a ebullición por 10 minutos.
- Centrifugar a 12000 rpm por 5 minutos, recuperar el sobrenadante y agregar 500 µL de isopropanol puro.
- Centrifugar 5 minutos a 12.000 rpm y eliminar el sobrenadante.

- Lavar el ADN adicionando 500 μ L de isopropanol (37%) y centrifugar a 12.000 rpm.
- Permitir que el isopropanol al 37% se evapore completamente a temperatura ambiente y resuspender el ADN en 100 μ L de buffer TE para preservar el ADN purificado a -20°C .³¹

11.5 Análisis molecular: para la identificación *S. mutans* se amplifica mediante PCR, un segmento específico del ADN cromosomal extraído, utilizando los cebadores que se indican en la tabla 1, los cuales amplifican un fragmento de 137pb. ³¹

Tabla 1. Secuencia de los cebadores y su localización en *Streptococcus mutans* publicada por Salazar, L et al. ³¹

Primer	Secuencia	Localización cDNA
SMUT5	5' - TGA AAC CTT GTC TAT CTC CTC TTT ACC -3'	1.760 - 1.783
SMUT3	5' - TCA GTT TTC AAA GGG CTC TG -3'	1.877 - 1.896

Tomado de Salazar, L et al.³¹

Protocolo de PCR

1. Desnaturalización inicial: 98 $^{\circ}\text{C}$ x 3 min.
2. 31 ciclos:
 - Desnaturalización: 95 $^{\circ}\text{C}$ x 1 min.
 - Hibridación: 53 $^{\circ}\text{C}$ x 1 min.
 - Extensión: 72 $^{\circ}\text{C}$ x 1 min.
3. Extensión final: 72 $^{\circ}\text{C}$ x 10 min.

La migración de los amplificadores se ha realizado mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio. Finalmente los resultados se han observado y documentados en el transiluminador UV con cámara digital.³¹

Método 2: Oho et al. (2000) describen el siguiente protocolo de PCR.¹³

- Desnaturalización: 95 $^{\circ}\text{C}$ x 30 seg.
- Hibridación: 59 $^{\circ}\text{C}$ x 30 seg.
- Extensión: 72 $^{\circ}\text{C}$ x 1 min.
- Electroforesis: gel de agarosa al 1,8 % con bromuro de etidio.¹³

Tabla 2. Secuencia de los cebadores y su localización en *Streptococcus mutans* publicada por Oho, T et al.¹³

Primers	Secuencia	Ubicación
GTFB-F	5'- ACTACACTTTCGGGTGGCTTGG-3'	793-814
GTFB-R	5'- CAGTATAAGCGCCAGTTTCATC-3'	1288-1309

Tomado de Oho et al.¹³

Con el objeto de mejorar la detección, se elaboraron nuevos cebadores (GTFB-FIN y GTFB-RIN) diseñados para hibridarse en las posiciones 817-838 y 1264-1285 de la secuencia de *gtfB* de *S. mutans*. Las condiciones de PCR fueron las mismas descritas en la amplificación con los cebadores anteriores.¹³

Tabla 3. Nuevos primers

Primers	Secuencia	Ubicación
GTFB-FIN	5'- AAAGCAGATTCTAATGAATCGA-3'	817-838
GTFB-RIN	5'- AATGTAAAATTTTGCCATCAGC- 3'	1264-1285

Tomado de Oho T et al.¹³

Discusión

Durante las últimas dos décadas, los investigadores han estado dedicados a desarrollar una vacuna que pueda controlar la enfermedad infecciosa causante de caries dental, pues se ha observado en varios estudios que existe importante transmisión de microorganismos entre individuos, principalmente entre miembros de una misma familia. Cuando los dientes hacen erupción en la cavidad oral, esta se vuelve sensible al incremento de *Streptococcus mutans*.³²

Se evidencia en diferentes estudios que varios factores, tales como: edad, sexo, raza, dieta, ambiente, cultura, social, económico, promueven la formación de la caries dental.^{32 33}

En investigaciones desarrolladas en varios países sudamericanos, se ha observado la existencia de caries en distintas magnitudes, así en: Brasil, el 95 % de la población, Perú, el 89%, Ecuador, el 95% en infantes.³²

En otro estudio realizado por Sanabria C et al.³⁴ por medio del índice cop (caries, obturaciones y pérdidas) en niños de hasta 12 años, clasificaron la incidencia en varios países de la siguiente manera:

- Muy bajo: < 1,2: China, Argelia, Libia y Sudáfrica, Dinamarca, entre otros.
- Bajo: 1,2 a 2,6: Nigeria, Egipto, Siria, Irán, Irak e India, entre otros.
- Intermedio: 2,7 a 4,4: Alaska, España, Italia, Rusia, entre otros.
- Alto: 4,5 a 6,5: Gran Bretaña.
- Muy alto: >6,5: Argentina, Canadá, Noruega y Finlandia, entre otros.

En Estados Unidos, Caufield et al.³³ identificaron que la mayor susceptibilidad de los niños para contagiarse con *S. mutans*, conocida como “ventana de infectividad”, se presenta a los dos años y dos meses, mientras que en Brasil, Florio et al.³³ la determinaron en un año con cinco meses y medio, esta diferencia podría deberse a varios factores, principalmente el nivel socio-económico, aunque ambos estudios coinciden en que se presentaría después de la erupción dentaria.

Schüpbach et al.³⁵, realizaron una investigación de lesiones cariosas en la zona radicular y encontraron mayor presencia de *S. mutans* en lesiones avanzadas. Por otro lado, Brailsford y et al.³⁶, indicaron que *S. mutans* forma parte de una pequeña fracción de microflora ubicada en la raíz pero que no existe prueba de que participe en el desarrollo de la caries en esa área. Loesche y Straffon³⁷, señalaron que la caries dental puede acontecer sin la presencia de *S. mutans*, mientras que Kleinberg³⁸, en su estudio, va más allá y mantiene que la alta presencia de *S. mutans* no obligatoriamente da paso a la formación de caries.

Conclusión

Streptococcus mutans es uno de los microorganismos orales más estudiados que se encuentran implicados en la generación de caries dental, gracias a la expresión de varios genes virulentos que lo ayudan a adherirse a las superficies dentales y crear biopelículas que a su vez tiende a solidificarse y dan origen a los cálculos dentales. Una vez que *S. mutans* se ha establecido en la cavidad oral, se expresa un grupo de genes que codifican la producción de enzimas involucradas en la acidificación del medio a partir de la descomposición de los azúcares, lo que daña el esmalte de los dientes y da origen a su degeneración. La comprensión de estos mecanismos puede ayudar en el desarrollo de estrategias de prevención y tratamiento de la caries dental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ojeda Garcés JC, Oviedo García E, Salas LA. *Streptococcus mutans* and dental caries. Rev CES Odontol. 2013;26(1):44–56.
2. Gamboa Jaimés FO. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*: experiencias de investigación. Univ Odontol. 2015;33(71):76.
3. Machado Tan T, Reyes Labarcena B. *Streptococcus mutans*, principal cariogénico de la cavidad bucal. Rev Progaleno. 2021;4(3):209–21.
4. Reyes Saberbein J, Rodríguez Torres L, Fernández Reyes M, Iparaguirre Carbajal J, Montalvo Meléndez W, Bravo Morocho K, et al. Análisis microbiológico antes y después de la utilización de la pieza de mano de uso odontológico. Kiru. 2012;9(1):13–20.
5. Pineda Higueta SE, Meneses Gómez EJ, Giraldo Quintero L. Evaluación de la presencia de bacterias patógenas en aerosoles generados por piezas de alta velocidad. Rev Nac Odontol. 2021;17(1):1–11.
6. Gamboa F, García DA, Lamby CP, Sarralde AL. Biotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *S. mutans* en niños con y sin caries dental. Rev Colomb Ciencias Químico-Farmacéuticas. 2016;45(2):288.
7. Moncada G, Duperat L del C, Palma P, Corsini G, Neira M, Reyes E, et al. Técnica de reacción de polimerasa en cadena (QPCR) en tiempo real para la identificación y cuantificación de *Streptococcus mutans* en saliva y biopelícula dentaria de niños. Rev Fac Odontol. 2016;28(1):71–94.
8. Badillo Barba M, Morales García J, Martínez Cárdenas M de LÁ, Castillo Umegido G, Gasca Nava E, Hernández Galván MJ, et al. Análisis bacteriológico de piezas de mano de alta velocidad utilizadas en la práctica clínica. Rev ADM. 2019;76(5):261–6.
9. Bustamante Andrade MF, Herrera Machuca J, Ferreira Adam R, Riquelme Sanchez D. Contaminación bacteriana generada por aerosoles en ambiente odontológico. Int J Odontostomatol. 2014;8(1):99–105.
10. Chamorro Jiménez AL, Ospina Cataño A, Arango Rincón JC, Martínez Delgado CM. Effect of secretory IgA on the adherence of *Streptococcus mutans* on human teeth. Rev CES Odontol. 2013;26(2):76–106.
11. Delgadillo Avilla JR, Espinoza Escajadillo SB, Campocónico Reátegui CH, Evaristo Chiyong TA, Cáceres de Barces L, Gómez Meza DN, et al. Presencia de *Streptococcus mutans* Genotipo C en niños y adolescentes peruanos con caries. Odovtos - Int J Dent Sci. 2018;20(3):121–9.
12. Inagaki S, Fujita K, Takashima Y, Nagayama K, Ardin AC, Matsumi Y, et al. Regulation of recombination between gtfB/gtfC genes in *Streptococcus mutans* by recombinase A. Sci World J. 2013;2013:1–7.
13. Oho T, Yamashita Y, Shimazaki Y, Kushiyama M, Koga T. Simple and rapid detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in human saliva by polymerase chain reaction. Oral Microbiol Immunol. 2000;15(4):258–62.
14. Badanian A, Bueno L, Papone V. Análisis bacteriano comparativo de cuadros de Periodontitis Crónica y Agresiva en una población muestra de Uruguay. Odontoestomatología. 2019;21(33):5–13.
15. Cubero Santos A, Lorido Cano I, González Huéscar A, Ferrer García MÁ, Zapata Carrasco MD, Ambel Sánchez JL. Prevalencia de caries dental en escolares de educación infantil de una zona de salud con nivel socioeconómico bajo. Pediatr Aten Primaria. 2019;21(82):e47–59.
16. Morales Miranda L, Gómez Gonzáles W. Caries dental y sus consecuencias clínicas relacionadas al impacto en la calidad de vida de preescolares de una escuela estatal. Rev Estomatol Hered. 2019;29(1):17–

- 29.
17. Michiyo Matsumoto N. Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Jpn Dent Sci Rev.* 2018;54(1):22–9.
 18. Yoshida A, Kuramitsu HK. Multiple *Streptococcus mutans* genes are involved in biofilm formation. *Appl Environ Microbiol.* 2002;68(12):6283–91.
 19. Senadheera D, Cvitkovitch DG. Quorum Sensing and Biofilm Formation by *Streptococcus mutans*. 2008;178–88.
 20. Olvera C, Castillo E, López Munguía A. Fructosiltransferasas, fructanas y fructosa. *Biotecnología.* 2007;14(Enero):327–46.
 21. Vásquez Ibarra S, Lobos Gilabert O, Padilla Espinoza C. Presencia de genes de virulencia gtfB y spaP en *Streptococcus mutans* aislados desde saliva y su relación con el índice COPD y ceod. *Rev clínica periodoncia, Implantol y Rehabil oral.* 2014;7(2):65–71.
 22. Roa Molina NS, Gómez Ramírez SI, Rodríguez Cíodaro A. Respuesta de células T, citocinas y anticuerpos frente al péptido (365-377) de la proteína de adhesión celular de *Streptococcus mutans*. *Univ Odontológica.* 2014;33(71):29–40.
 23. Jaramillo Gómez LM, Gómez Ramírez SI. Antígeno proteico de superficie celular (PAc) de *Streptococcus mutans*. *Univ Odontol.* 2004;125–31.
 24. Rued BE, Covington BC, Bushin LB, Szewczyk G, Laczovich I, Seyedsayamdost MR, et al. Quorum Sensing in *Streptococcus mutans* Regulates Production of Tryglysin, a Novel RaS-RiPP Antimicrobial Compound. *MBio.* 2021;12(5):1–25.
 25. Leung V, Dufour D, Lévesque CM. Death and survival in *Streptococcus mutans*: differing outcomes of a quorum-sensing signaling peptide. *Front Microbiol.* 2015;6(OCT):1–6.
 26. Szafranski SP, Deng ZL, Tomasch J, Jarek M, Bhujji S, Rohde M, et al. Quorum sensing of *Streptococcus mutans* is activated by *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and by the periodontal microbiome. *BMC Genomics.* 2017;18(1):1–15.
 27. Kuhnert WL, Zheng G, Faustoferri RC, Quivey RG. The F-ATPase operon promoter of *Streptococcus mutans* is transcriptionally regulated in response to external pH. *J Bacteriol.* 2004;186(24):8524–8.
 28. Deng Y, Yang Y, Zhang B, Chen H, Lu Y, Ren S, et al. The vicK gene of *Streptococcus mutans* mediates its cariogenicity via exopolysaccharides metabolism. *Int J Oral Sci.* 2021;13(1):1–12.
 29. Sáenz Rivera E, Bañol Acevedo EM, Rincón Rodríguez RJ. SMU.759 que codifica para una proteasa similar a colagenasa es constitutivo en *Streptococcus mutans*. *Rev Nac Odontol.* 2021;17(1):1–11.
 30. Núñez DP, García Bacallao L. Bioquímica de la caries dental. *Rev Habanera Ciencias Medicas.* 2010;9(2):156–66.
 31. Salazar LA, Vásquez C, Almuna A, Oporto G, Santana R, Herrera CL, et al. Detección molecular de *Streptococcus* Cariogénicos en saliva. *Int J Morphol.* 2008;26(4):951–8.
 32. Mayor Hernández F, Pérez Quiñones JA, Cid Rodríguez M del C, Martínez Brito I, Martínez Abreu J, Moure Ibarra MD. La caries dental y su interrelación con algunos factores sociales. *RevMedElectrón.* 2014;36(3):339–49.
 33. Caviglia I, García G. Determinación de la adquisición del *Streptococcus* grupo *mutans* en un grupo de niños uruguayos de hasta 36 meses de edad. Estudio piloto. *Odontología.* 2020;22(35):63–71.

34. Sanabria-Castellanos CM, Suárez-Robles MA, Estrada-Montoya JH. Relación entre determinantes socioeconómicos, cobertura en salud y caries dental en veinte países. *Rev Gerenc y Polit Salud*. 2015;14(28):161–89.
35. Schüpbach P, Osterwalder V, Guggenheim B. Human root caries: Microbiota of a limited number of root caries lesions. *Caries Res*. 1996;30:52–64.
36. Brailsford SR, Shah B, Simons D, Gilbert S, Clark D, Ines I, et al. The predominant aciduric microflora of root-caries lesions. *J Dent Res*. 2001;80(9):1828–33.
37. Loesche WJ, Straffon LH. Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. *Infect Immun*. 1979;26(2):498–507.
38. Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: An alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13(2):108–25.