

# STREPTOCOCCUS SANGUINIS Y ACTINOMYCES VISCOSUS BACTERIAS PIONERAS EN LA FORMACIÓN DEL BIOFILM DENTAL

## ACTINOMYCES VISCOSUS AND STREPTOCOCCUS SANGUIS BACTERIA PIONEERS IN DENTAL BIOFILM FORMATION

Donald Ramos Perfecto<sup>1a</sup>, Katherine Brañez<sup>1b</sup>

### Resumen

En la actualidad es de gran importancia el estudio del biofilm dental, una estructura muy organizada formada principalmente por microorganismo, componentes de la dieta y saliva, a su vez su relación con una diversidad de enfermedades bucales, hace necesario investigar sobre dos bacterias; *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*, relacionadas con la formación inicial del biofilm dental. Esta revisión da a conocer sus características generales, factores de virulencia, aislamiento. KIRU. 2016 jul-dic; 13(2): 181-186.

**Palabras Clave:** *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus*, virulencia, biofilm dental. (Fuente: DeCS BIREME).

### Summary

Today is very important to study the dental biofilm a highly organized structure mainly composed of microorganism, components of the diet and saliva, turn their relationship to a variety of oral diseases, it is needed to focus the research around two bacteria: *Actinomyces viscosus* and *Streptococcus sanguinis*, related to the initial formation of dental biofilm. This review will present its general characteristics, virulence factors and isolation. KIRU. 2016 Jul-Dec; 13(2): 181-186.

**Key words:** *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus*, virulence, dental plaque. (Source: MeSH NLM).

<sup>1</sup> Universidad Nacional Mayor de San Marcos

<sup>a</sup> Docente de Microbiología y Periodoncia

<sup>b</sup> Bachiller de Odontología

### Correspondencia:

Donald Ramos

Dirección: Av. German Amezaga 375, Ciudad Universitaria, UNMSM, Lima, Perú.

Correo electrónico: [dramos\\_37@hotmail.com](mailto:dramos_37@hotmail.com)

### INTRODUCCION

La cavidad oral es un ecosistema complejo donde interactúan tejidos propios de la boca, que contiene una amplia variedad de especies microbianas<sup>(1)</sup>, que pueden ser hongos, parásitos, formas virales y bacterias, estos últimos principalmente comensales aproximadamente 10<sup>10</sup> bacterias pertenecientes a 500 y 700 especies<sup>2,3</sup>, que colonizan las mucosas y dientes donde van habitando ecosistemas primarios y secundarios formando una biopelícula dental (biofilm dental). Biofilm dental, también denominado placa dental, formada por numerosas bacterias, hongos y especies virales, y una matriz extracelular organizada<sup>4</sup>. El biofilm también se puede definir como una estructura asociativa de una o varias estirpes bacterianas, embebidas en una matriz extracelular de polisacáridos autoproducida y que se encuentra adherida a una superficie o sustrato<sup>5</sup>.

Según la OMS (organización mundial de la salud), el biofilm es un ecosistema bacteriano proliferante y enzimáticamente activo<sup>5</sup>. El biofilm dental es una flora microbiana bien organizada, que viven en comunidad, generando su propio sistema de activación, para su proliferación, llamado *quorum sensing*. El cual da al biofilm propiedades distintivas, además de influir en la estructura de la comunidad bacteriana favoreciendo el crecimiento de bacterias beneficiosas para el biofilm e impidiendo el desarrollo de especies competidoras<sup>6</sup>.

Sobre la cantidad de microorganismo, se ha estimado que en un milímetro cúbico del biofilm dental contiene unos 100 millones de bacterias, que puede servir como un reservorio persistente para patógenos potenciales<sup>7</sup>.

El biofilm es el principal responsable de las enfermedades de la boca<sup>8</sup>, como la caries dental, enfermedades periodontales e infecciones pulpares y está formado en sus inicios por colonizadores primarios de gran importancia, ya que proporcionan sustratos de fijación para las siguientes etapas de la biofilm dental, a través de la formación de componentes de coadhesión de la biopelícula<sup>9</sup>.

La cavidad oral natural alberga una gran variedad de bacterias<sup>10</sup>. El *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*) y *Actinomyces viscosus* (*A. viscosus*) se encuentran entre las bacterias iniciadoras o pioneras de la formación de biopelículas orales anteriores a la fijación de los colonizadores secundarios y terciarios y por tanto, de gran importancia en el desarrollo de enfermedades periodontales<sup>11-13</sup>.

### MÉTODO

La revisión se hizo a base de publicaciones de artículos científicos y libros especializados sobre el tema, en diferentes idiomas: inglés, portugués y español, utilizando base de datos Pubmed, Medline, Scielo, Scopus, EBSCO,

Proquets, utilizando palabras claves de búsqueda como: *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus sanguinis*, *Actinomyces viscosus*, *biofilm*, *biopelícula*, *virulencia*.

## DESARROLLO DEL TEMA

### *Streptococcus sanguinis*

El *Streptococcus sanguinis*, antiguamente llamado como *Streptococcus sanguis*, pertenece a la familia de *Streptococcaceae* de género *Streptococcus*<sup>14,15</sup>, el nombre de la especie fue dada por White y Niven en 1944<sup>1,16</sup>, a los estreptococos  $\alpha$ -hemolíticos, aislados de la sangre de pacientes con endocarditis subaguda<sup>1</sup>.

### Taxonomía

Reino	Bacteria
Filo	Fermicutes
Clase	Bacilli
Orden	Lactobacillales
Familia	Streptococcaceae
Genero	<i>Streptococcus</i>
Especie	<i>S. sanguinis</i>

El *Streptococcus sanguinis* forma parte de las bacterias de la cavidad oral y es uno de los colonizadores primario del biofilm<sup>17-20</sup> es frecuentemente aislado en pacientes con endocarditis bacteriana<sup>15,20-23</sup>, aunque los estreptococos del grupo viridans son la causa más común de infección de la válvula endocárdica del corazón, de entre este grupo *S. sanguinis* es la más común<sup>20,24</sup>.

Esta bacteria se encuentra en el grupo sanguis dentro del grupo viridans, aunque algunos investigadores lo consideran dentro del grupo mitis basándose en la secuencia del gen 16SrRNA, pero puede diferenciarse fácilmente desde el punto de vista fenotípico de ese grupo por sus reacciones positivas para arginina dihidrolasa e hidrólisis de esculina<sup>22,25</sup>.

### Morfología y estructura

#### Características macroscópicas:

Sus colonias son pequeñas de un color, gris/verde, traslúcidas y alfa hemólisis en medios de agar sangre<sup>20,26</sup>.

#### Características microscópicas:

Los estreptococos presentan como unidad de formación a los cocos, con dimensiones de 0,6 a 2  $\mu$ m de diámetro<sup>27</sup>. Gram positivos<sup>21</sup> y con frecuencia se agrupan en pares o cadenas mediana y largas<sup>26,28,29</sup>. Son catalasa negativo<sup>26,29</sup> (3% peróxido de hidrogeno) a las condiciones de óxido reducción son anaerobios facultativos<sup>21,28,29</sup>.

El genoma de *Streptococcus sanguinis* es una molécula de ADN circular que consta de 2.388.435 pb y es 177-590 k

b más grande que los otros 21 genomas de estreptococos que se han secuenciado<sup>30</sup>.

Tabla 1. Características bioquímicas de *S. sanguinis* según biotipo

BIOTIPO	FORMACIÓN DE GLUCANO A PARTIR DE SACAROSA	HEMÓLISIS EN AGAR SANGRE DE OVEJA	PRODUCCIÓN DE H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
A	+	Alfa	+
B	+	Alfa	+

FERMENTACIÓN DE:					HIDROLISIS	
BIOTIPO	SALICINA	INULINA	MANITOL	SORBITOL	ARGININA	ESCULINA
A	+	+	-	-	+	+
B	-	-	-	-	-	-

#### Factores de virulencia:

Fimbrias y adhesinas : Son estructuras que permiten a las bacterias adherirse a la película adquirida, como también, de moléculas específicas, denominadas "adhesinas", presentes en la superficie bacteriana que se unen con receptores específicos de la película adquirida; mediante estructuras proteicas<sup>13</sup>.

Producción de peróxido de hidrogeno.

Presenta un mecanismo de competencia con *Streptococcus mutans*, siendo capaz de inhibir la presencia de esta bacteria por la producción de peróxido de hidrogeno

### Fisiopatología

En el biofilm dental se han encontrado más de 700 tipos de bacterias<sup>31</sup>, siendo uno de ellos el *S. sanguinis*, el cual es un residente de la superficie dental, cerca al margen dentogingival<sup>32,33</sup>. Coloniza la cavidad bucal entre los 6 -12 meses de vida<sup>34</sup>, después del inicio de la erupción dental y es el primer microorganismo que se instala en las superficies dentarias limpias<sup>14,15</sup>. *S. sanguinis* es un colonizador y habitante normal del esmalte<sup>20,35</sup>, su presencia se asocia con las biopelículas saludables, con la ausencia de caries<sup>35</sup>, así también se le ha relacionado con cuadros de estomatitis aftosa recurrente<sup>36</sup>.

El *S. sanguinis* produce enzimas glucosiltransferasas, que son responsables de la síntesis de glucanos para lo cual hidroliza la molécula de sacarosa y transfiere el residuo de glucosa a un polímero de glucano preexistente<sup>37</sup>.

#### Aislamiento de *Streptococcus sanguinis*

Para el aislamiento del *Streptococcus sanguinis*, pueden utilizarse muestras de Biofilm dental de la superficie labial

lisa de los dientes anteriores, previa dilución en solución salina al 0,9 %, se siembra 100 µL en placas de agar mitis salivarius. Las placas son incubadas por medio del método de la vela extinguida a 37 ° C durante 48 horas. Pasado el periodo de incubación, las colonias características son pequeñas bien adheridas al agar, estas son observadas por microscopia estereoscópica para hacer una lectura detallada, realizamos tinción de estas colonias para observar su disposición de cocos en cadena, se resiembra, para obtener un cultivo puro y finalizamos haciendo pruebas bioquímicas<sup>39</sup> descritas en la tabla 1.

**Actinomyces viscosus**

**Taxonomía<sup>9,40</sup>**

REINO	Actinobacteria
CLASE	Actinobacteria
SUBCLASE	Actinobacteridae
ORDEN	Actinomycetales
SUBORDEN	Actinomycineae
FAMILIA	Actinomycetaceae
GÉNERO	Actinomyces
ESPECIE	A. viscosus

Anteriormente llamado *Odontomyces viscosus*, descrito en 1969, aislándose originalmente de un hámster <sup>40</sup>.

**Morfología y estructura**

**Características macroscópicas:**

Las colonias de *A. viscosus* son por lo general circulares, convexa, de borde entero, de un color blanco pálido, brillante y transparente. En relación a su tamaño pueden ser grandes y pequeñas<sup>41</sup>.

Estas colonias al enfrentamiento con peróxido de hidrogeno al 3 % reaccionan, siendo catalasa positivo<sup>41</sup>.

**Características microscópicas:**

Su morfología es ligeramente curva, en barras o filamentos delgados largos y cortos, observándose las ramificaciones típicas. A la tinción son Gram positivo<sup>41,42</sup>.

Los dos tipos de colonias pueden dar diferentes observaciones, las colonias grandes y lisas presentan una configuración de V, Y y T y las colonias pequeñas y ásperas se observan como filamentos de ramificación corta<sup>43</sup>.

Tabla 2. Características bioquímicas y fenotípicas de *A. viscosus*

CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS:	RESULTADOS
D-GALACTOSE	+
Leucine ARYLAMIDASE	+
ELLMAN	+
Phenylalanine ARYLAMIDASE	+
L-proline ARYLAMIDASE	+
L-Pyrrolydonyl- ARYLAMIDASE	-

D-CELLOBIOSE	-
Tyrosine ARYLAMIDASE	+
Ala-Phe-Pho- ARYLAMIDASE	+
D-GLUCOSE	+
D-MANNOSE	+
D-MALTOSE	+
SACCHAROSE/SUCROSE	+
ARBUTIN	+
UREASE	+
ARGININE GP	-
MALTOTRIOSE	+
ESCULIN hydrolise	-

*A. viscosus* es aislado de cálculo y de caries en superficie radicular; no presentando transmisión de persona a persona<sup>43</sup> en un estudio de caracterización de 195 *Actinomyces*, recogida de placa supra y subgingival de cinco adultos con periodontitis crónica, el *A. viscosus* serotipo II fue el más comúnmente aislado e identificado, seguido de *A. gerencseriae*, *A. Naeslundii*, *A. georgiae* y *A. israelii*<sup>40</sup>.

*A. viscosus* es un anaerobio facultativo<sup>44</sup>, esta especie aislada de la cavidad oral puede ser importante en la formación de la placa subgingival aunque no parece ser patógena para el hombre<sup>44</sup>, pero se sospecha que causa enfermedades periodontales que afectan las zonas cervicales de los dientes y los tejidos de soporte<sup>45</sup>.

**Factores de virulencia**

Fimbrias: *A. viscosus*, tiene una buena capacidad para adherirse a una superficie con sus estructuras superficiales especiales, fimbria tipo 1, estas tienen afinidad por las proteínas ricas en prolina y estaterina proteína de colágeno y el esmalte del diente a través de adhesina- receptor <sup>9</sup>.

Producen de polisacáridos intracelulares y extracelulares de alto peso molecular, este último lo forman bacterias como los *Streptococcus* del grupo viridante (*S. mutans*, *S. sanguinis*, *S. mitior*, *S. salivarius*, y otros como algunos *Lactobacilos*), producen polisacáridos extracelulares y lo hacen a partir de la sacarosa que se ingiere en exceso y se queda en la placa o en los espacios retentivos de los dientes, gracias a la acción de exoenzimas (de acción extracelular) originan mutanos, dextranos y levanos. El mutano es muy adhesivo y les permite a muchas bacterias resistir las fuerzas de desplazamiento, y los dextranos y levanos usualmente son reserva alimenticia bacteriana.

**Fisiopatología**

El género *Actinomyces* y *Streptococcus* son colonizadores primarios de la película adquirida, debido a que es capaz de reconocer las proteínas que están en la película (proteína rica en prolina, estaterina, IgA secretora, la cistatina, mucina, lactoferrina, lisozima, y Amilasa)<sup>9</sup>.

*A viscosus* es un colonizador primario de la superficie dental<sup>46</sup>, que está involucrado en la caries de raíz dental<sup>46</sup>, debido a que puede sintetizar grandes cantidades de

glucógeno y posteriormente degradar este polímero lentamente con la producción de ácido, a niveles de pH ácidos críticos, desempeñando un papel importante en el proceso de la caries de raíz<sup>46</sup>.

La enzima fructosiltransferasa encontrada en *S. salivarius*, *A. viscosus* y algunos *S. mutans*, sintetiza otro polisacárido extracelular importante, homopolímero de la fructosa, al que se denomina levano o fructano<sup>37</sup>. Son bastante solubles y fácilmente degradables. Dado que estas bacterias también son capaces de degradar dicho polímero, es difícil determinar la verdadera producción de fructano por las bacterias del biofilm. El sustrato específico para las fructosiltransferasas es la sacarosa, de la que se usa la fructosa para incrementar el polímero fructofuranosa, liberando una molécula de glucosa en el proceso. En este caso, la glucosa restante será captada por la célula bacteriana y destinada a la obtención de energía o almacenada como polímero intracelular de reserva<sup>37</sup>.

*A. viscosus* y *Actinomyces odontolíticus* se presentan como bacterias cariogénicas, pero lo interesante a destacar es que en tratamientos exitosos de periodontitis crónicas, las cuentas a corto y a largo plazo de patógenos probados como *P. gingivalis*, *B. forsythus* y *P. intermedia*, bajan significativamente en tanto que las cuentas de *A. viscosus*, así como de *S. sanguinis*, y otros, suben significativamente<sup>47</sup>.

Bacterias como los *Streptococcus sanguinis*, el *S. mitis*, el *S. sobrinus* y otros como el *Actinomyces viscosus*, producen sustancias inhibitorias como el peróxido de hidrogeno, que matan a las *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en el surco, a la vez que éstos inhiben a los *Streptococcus* por la producción de una bacteriocina. Presentándose lo que se llama una antibiosis bacteriana<sup>47</sup>.

*A. viscosus* impera en el Biofilm dental que cubre las lesiones de la superficie de la raíz en los dientes humanos, aunque su papel en el inicio de las mismas es difícil de demostrar<sup>48</sup>, se ha podido determinar que es una de las bacterias que participa en la progresión de la caries dental<sup>42,49,50</sup>.

#### Aislamiento del *Actinomyces viscosus*

Para su aislamiento podemos tomar muestras de biofilm dental subgingival, usando conos de papel de la primera serie (# 30 ó 40), los cuales son colocados en el surco gingival por 60 segundos, para luego retirarlo y llevarlo inmediatamente a un medio de transporte de tioglicolato. Esta muestra es previamente diluida y sembrada en un medio de agar sangre e incubado en condiciones de anaerobiosis por 3 a 5 días. Posterior a la incubación, se realiza una lectura de las colonias con microscopía estereoscópica presentando características: colonias medianas a pequeñas, lisas, blanquecinas y otras anteriormente mencionadas. Estas son tincionadas con el kit de coloración Gram, para confirmar su morfología bacilar, su disposición por lo general ramificada y su reacción positiva a la tinción. Son catalasa positivo e degrada la urea, otras características bioquímicas<sup>51</sup> (Tabla 2). Así también el medio selectivo CFAT (Cadmium, Fluoride, Acriflavin y Tellurite) para *A. viscosus*, permite

una buena recuperación de este microorganismo de muestra de biofilm dental<sup>46</sup>.

#### DISCUSIÓN

El *Streptococcus sanguinis* es una bacteria alfa hemolítico por ende pertenece al grupo de Streptococcus viridans esto según GE<sup>20</sup>, aunque algunos autores como Montes<sup>25</sup> lo consideran en el grupo *Streptococcus mitis* basándose en la secuencia del gen 16SrRNA. Pero sus características fenotípicas y características bioquímicas como pruebas positivas para la arginina dihidrolasa y la hidrólisis de la esculina lo posicionan más a este grupo, esto según Koneman<sup>22</sup>.

*Actinomyces viscosus* parece no ser un patógeno para el hombre, como lo podían ser *A. israelii* o *A. naeslundii* esto según Serrano<sup>44</sup>, pero se considera estar muy involucrado en la caries de raíz dental ya que su presencia en estas lesiones es bien marcada en la progresión de la enfermedad, esto según Brailsford<sup>46</sup>.

Para Guillarte<sup>13</sup> *S. sanguinis* y *A. viscosus* son bacterias perjudiciales, por ser los colonizadores primarios en la formación del biofilm dental, así también por ser prerequisites para la colonización posterior de especies como Veillonella y Fusobacterium, siendo esta última de importancia para el enlace con los colonizadores secundarios de gran actividad patológica. Pero para Farias<sup>47</sup> la presencia de *S. sanguinis* sería favorable ya que produciría peróxido de hidrogeno, que mataría a los *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, como a su vez, éstos inhibirían a los Streptococcus por la producción de una bacteriocina, lo que es llamado antibiosis bacteriana.

#### CONCLUSIONES

*S. sanguinis* y *A. viscosus* son colonizadores primarios en la formación de biofilm dental, siendo *S. sanguinis* un colonizador del diente desde los 6 a 9 meses de vida, posterior a la erupción dental, siendo una bacteria que podría ser favorable para disminuir la cantidad de *S. mutans* ya que presentan un mecanismo antagónico por competencia. Así también en los tratamientos exitosos de periodontitis, *A. viscosus* como *S. sanguinis*, incrementan su presencia significativamente, siendo indicadores de una flora favorable para la homeostasis de surco periodontal. Así también *S. sanguinis* genera cierto riesgo, por estar muy asociado a la endocarditis bacteriana, que se podría generar por una bacteriemia que se da muy comúnmente en el tratamiento dental.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev. 1980; 44(2):331-384.
2. Ojeda JC, Oviedo E, Salas I. *Streptococcus mutans* y caries dental. CES odontol. 2013;26 (1):44-46.
3. Perea EJ. La flora de la boca en la era de la biología molecular. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2004; 9 suppl:S1-10.
4. Hirschfeld J, Dommisch H, Skoraa P, Horvath G, Latz E, Hoerauf A, et al. Neutrophil extracellular trap formation in supragingival biofilms. IJMM 2015; 305: 453-463.

5. Sirvent F, García E. Biofilm. Un nuevo concepto de infección en Endodoncia. *Endodoncia* 2010; 28 (4):241-256.
6. Escribano M, Matesanz P, Bascones A. Pasado, presente y futuro de la microbiología de la periodontitis. *Av Periodon Implantol* 2005; 17(2):79-87.
7. Kouidhi B, Mohammed Y, Chaieb K. Drug resistance of bacterial dental biofilm and the potential use of natural compounds as alternative for prevention and treatment. *Microbial Pathogenesis* 2015; 80:39-49.
8. Francia CM, Lissera RG, Battellino LJ. película adquirida salival: revisión de la literatura. *Acta odontol. venez* 2007; 45(3):1-11.
9. Nanna S. Oral Actinomyces Species in Health and Disease: Identification, Occurrence and Importance of Early Colonization. Publications of the National Public Health Institute. 2007
10. Szpunar SM, Eklund SA, Burt BA. Sugar consumption and caries risk in schoolchildren with low caries experience. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1995; 23:142-146
11. Schmidt JC, Bux M, Filipuzzi-Jenny E, Kulik EM, Waltimo T, Weiger R, Walter C. 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):152-158
12. Marsh P, Martin M. Oral Microbiology. 2000 Fourth edition. Wright. England.
13. Guilarte C, Perrone M. Microorganismos de la placa dental relacionados con la etiología de la periodontitis. *Acta odontol. venez*, 2004; 42(3):1-9
14. López GP. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de la *Camellia sinensis* (té verde) frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y al *Streptococcus sanguinis* (ATCC) 10556). [Tesis]. Lima: UPC 2014.
15. Caufield PW, Dasayanake AP, Li Y, Pan Y, Hsu J, Hardin JM. (2000) natural history of streptococcus sanguinis in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity. *Infection and immunity.* 2000; 68 (7): 4018–4023.
16. White JC, Niven CF.. Streptococcus S.B.E.: A Streptococcus associated with subacute bacterial endocarditis. *J. Bacteriol.* 1946; 51(6): 717-722.
17. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol.* 2010; 8:471-480.
18. Ge X, Shi X, Shi L, Liu J, Stone V, Kong F, et al. Involvement of NADH Oxidase in Biofilm Formation in *Streptococcus sanguinis*. *PLoS ONE.* 2016 ;11 (3): 1-20
19. Kneist S, Nietzsche S, Küpper H , Raser G, Willershausen B, Callaway A. Penetration of *Streptococcus sanguinis* into dental enamel. *anaerobe* 2015; 35:54-59.
20. Ge X, Kitten T , Chen Z, Lee SP, Munro CL, Xu P. Identification of *Streptococcus sanguinis* Genes Required for Biofilm Formation and Examination of Their Role in Endocarditis Virulence. *Infect Immun.* 2008; 76(6): 2551–2559.
21. Paik S, Senty L, Das S, Noe JC, Noe, Munro CL, Kitten T. Identification of Virulence Determinants for Endocarditis in *Streptococcus sanguinis* by Signature-Tagged Mutagenesis. *infection and immunity*, 2005; 73(9): 6064–6074.
22. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Winn WC, Procop GW, Woods GL, et al. Koneman: diagnóstico microbiológico, 6ta ed. España Ed. medica panamericana. 2008.
23. Medina D, Ulloa G, Camere R, Caballero S, Mayta F, del Valle J. antibacterial activity of bixa Orellana( achiote) against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. *Asian Pac J Trop Biomed* 2016; 6(5): 400–403
24. Senty L, Das S, Kanamoto T, Munro CL, Kitten T. Development of genetic tools for in vivo virulence analysis of *Streptococcus sanguinis*. *Microbiology* (2009); 155: 2573–2582.
25. Montes M, García A. Género Streptococcus: una revisión práctica para el laboratorio de microbiología. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007; 25 Supl 3:14-20.
26. Microbiologics Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release [internet]. 2016 [citado 10 junio 2016].; disponible en: <http://microbiologics.com/site/certificate.html>
27. Negróni M. Enfermedades bacterianas. 1ª parte Estreptococos. En: Negróni M. *Microbiología estomatológica. Fundamentos y guía práctica.* 2 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
28. Rubio Flores D. Estudio de la capacidad de inhibición del crecimiento bacteriano de los adhesivos autograbantes frente a gérmenes de la cavidad oral. [Tesis]. España: Universidad Complutense de Madrid 2013.
29. Bacteriology – Identification | ID 4 | Issue no: 3 | Issue date: 28.10.14 | Page: 9 of 36 UK Standards for Microbiology Investigations | Issued by the Standards Unit, Public Health England.
30. Xu P, Alves JM, Kitten T, Brown A. Genome of the Opportunistic Pathogen *Streptococcus sanguinis*. *J Bacteriol.* 2007; 189(8): 3166–3175.
31. Periasamy S, Kolenbrander PE, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Builds mutualistic biofilm communities with *Fusobacterium nucleatum* and Veillonella species in saliva. *Infect Immun.* 2009; 77(9):3542-51.
32. Salazar VG. Streptococcus mutans en placa dentobacteriana como factor de riesgo para la caries en niños de la escuela Ignacio Ramírez. [tesis]. México: UV 2011.
33. Aricapa DP. Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos. [tesis]. Bogotá: PUJ 2009.
34. Aguilar L, Jiménez MJ. La teoría unitaria en la etiopatogenia de la infección odontogénica. En: Infecciones Odontogénicas en la Comunidad y Antibióticoterapia: Dos factores a sincronizar. Madrid: Adalia farma eds, 2006; 25-36.
35. Giacaman RA, Torres S, Gómez Y, Muñoz C, Kreth J Correlation of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* colonization and ex vivo hydrogen peroxide production in carious lesion-free and high caries adults. *Arch Oral Biol.* 2015; 60(1):154-9.
36. Del Puerto M, Pérez JA, Perdomo J, Castro EM, Casas L. Homeopatía y estomatitis aftosa recurrente. Revisión bibliográfica. *Rev. Med. Electrón [internet].* 2011 [citado 10 junio 2016]; 33(2):220-224. disponible en: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202011/vol2%202011/tema14.htm>
37. FOUBA Cátedra de Bioquímica General y Bucal bioquímica del biofilm cariogénico. Buenos Aires. 2013.
38. Kreth J, Zhang Y, Herzberg MC. Streptococcal Antagonism in Oral Biofilms: *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus gordonii* Interference with *Streptococcus mutans*. *Journal of Bacteriology*, 2008; 190(13): 4632–4640.
39. Hamada S, Torri M, Tsuchitani Y, Kotani S. Isolation and Immunobiological Classification of Streptococcus sanguis from Human Tooth Surfaces. *J. Clin. Microbiol.* 1980; 12 (2): 243-249
40. Kónönen E, Wade WG. Actinomyces and Related Organisms in Human Infections. *Clinical Microbiology Reviews.* 2015; 28 (2):419-442.
41. Microbiologics Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release [internet]. 2016 [citado 10 junio 2016].; disponible en: <http://microbiologics.com/site/certificate.html>
42. Prashanth Bernard F, Kannan I, Sambandam C, Jayalakshmi M, Premavathy R, Shantha S. A study on in vitro antibacterial activity of *Ficus bengalensis* linn. on dental caries pathogens *Streptococcus mutans* and *Actinomyces viscosus*. *IJPSPR*, 2013; 4(2):843-846.

43. Issued by the Standards Unit, Microbiology Services, PHE Bacteriology – Identification | ID 15 | Issue no: 2 | Issue date: 26.06.15 | Page: 1 -25
44. Serrano A, Sandoval T. Identificación y Diagnóstico de Actinomicetales Patógenos. 1<sup>ra</sup> ed Venezuela: Ed. Venezolana C. A. ULA.2005:20,147
45. Zylber LJ, Jordan HV. Development of a Selective Medium for Detection and Enumeration of *Actinomyces viscosus* and *Actinomyces naeslundii* in Dental Plaque. J CLIN MICROBIOL 1982; 15(2):253-259.
46. Brailsford SR, Tregaskis RB, Leftwich HS, Beighton D. The predominant Actinomyces spp. isolated from infected dentin of active root caries lesions. JDR 1999; 78:1525-1534.
47. Fariás F. Enfermedad periodontal y microorganismos periodontopatógenos. ODOUS Científica [internet]. [citado 01 junio 2016]. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/odontologia/revista/v4n1/4-1-2.pdf>
48. Liébana Ureña, J. Microbiología Oral. Edit. Interamericana. Mac Graw-Hill. 1995:220,552.
49. Barrancos M. barrancos P. operatoria dental, integración clínica. 4<sup>a</sup> edición, Buenos Aires: editorial médica panamericana S.A; 2006.
50. Peña M, Calzado M, González M, Cordero S, Azahares H. Patógenos periodontales y sus relaciones con enfermedades sistémicas. Cuba. MEDISAN 2012; 16(7):1143-1148
51. Flórez LT, Concha SC. Actinomyces sp. en muestras de placa bacteriana de personas adultas jóvenes y adultas mayores. Rev.CES Odont.2009; 22(2):9-17.

Recibido: 10-08-16

Aprobado: 10-11-16

**Citar como:** Ramos D., Brañez K. *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus* bacterias pioneras en la formación del biofilm dental. KIRU. 2016;13(2): 181-186.