

## MICROBIOLOGÍA DE LA DENTINA CARIADA EN HUMANOS

**Recibido para Publicación: 13/03/2007**

**Aceptado para publicación: 08/05/2007**

**Figuroa-Gordon M(1)**, Especialista en Odontología Operatoria y Estética

**Acevedo AM(2)**, MSc, PhD

1. Profesor Asistente, Cátedra de Odontología Operatoria, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela
2. Instituto de Investigaciones Odontológicas "Raúl Vincentelli", Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela.

Figuroa-Gordon M Cátedra de Odontología Operatoria, Piso 2, Facultad de Odontología, UCV. E-mail: [roaoun@cantv.net](mailto:roaoun@cantv.net)

### RESUMEN

La lesión de Caries Dentinaria representa el signo tardío de la Enfermedad Caries Dental. Esta Dentina Cariada ha sido objeto de estudios microbiológicos desde 1890 hasta la actualidad, con la finalidad de caracterizar la compleja y diversa microbiota que la compone. En esta revisión se citan los estudios más recientes, basados en técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (RCP), lo que ha permitido detectar microorganismos, que no habían sido identificados en estudios anteriores, donde sólo se aplicaban medios de cultivos selectivos y técnicas de identificación bioquímica. Entre las especies microbianas encontradas en Dentina Cariada podemos citar tanto bacterias Grampositivas: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces*, *Eubacterium*, *Rothia*, *Arachnia*, *Micromonas* y *Pseudoramibacterium*; como bacterias Gramnegativas: *Prevotella*, *Porphyromona* y *Selenomonas*. Es importante continuar los estudios en este campo para entender los mecanismos microbianos responsables de la invasión y destrucción del tejido dentinario, y así poder comprender la patogénesis de la lesión de Caries Avanzada.

**Palabras claves:** Dentina cariada, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, reacción en cadena de la polimerasa.

### ABSTRACT

Dentine Caries Lesion represents the latest sign of the Dental Caries Disease. In order to discover and characterize the complexity and diversity of caries dentine microbiota have been made microbiological studies from 1890 to the present time. In this review, recent studies based on molecular techniques (PCR) that have allowed detect microorganisms which have not been identified in previous studies based on biochemical techniques of identification and selective cultures, are mentioned. Among microbial species detected in caries dentine can mention as much Gram-positive bacteria: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, *Actinomyces*, *Eubacterium*, *Rothia*, *Arachnia*, *Micromonas* and *Pseudoramibacterium*; as Gram-negative bacteria: *Prevotella*, *Porphyromona* and *Selenomonas*. It is important to continue the studies in this field in order to understand the microbial mechanisms responsible for the invasion and destruction of the dentine structure.

**Key words:** caries dentin, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, polymerase chain reaction.

Esta revisión se realizó con el objetivo de evaluar los microorganismos implicados en la lesión de Caries Dentinaria. La Caries Dental es una enfermedad infecciosa, crónica y de etiología multifactorial, caracterizada por un desequilibrio en el proceso dinámico y fisiológico de episodios de desmineralización y remineralización de los tejidos duros del diente, resultado del metabolismo de los carbohidratos por parte de las bacterias que conforman la Placa Dental. Este proceso en el tiempo, puede provocar una pérdida neta de minerales y por consecuencia una cavidad. La enfermedad no ocurre en ausencia de placa dental y sin la presencia de una exposición frecuente de carbohidratos fermentables provenientes de la dieta(1). Cabe destacar que la naturaleza infecciosa de la Caries Dental, se conoció gracias al estudio realizado en 1960, por Fitzgerald y Keyes(2), quienes

demonstraron el papel de *Streptococcus mutans* como agente microbiano cariogénico en caries experimental en hamsters.

### Caries Dentinaria

La Caries Dentinaria representa el signo tardío de la enfermedad Caries Dental, y ha sido objeto de numerosos estudios microbiológicos desde 1890 hasta la actualidad. Los estudios más recientes basados en técnicas moleculares, han permitido detectar la presencia de especies bacterianas que fueron desestimadas en estudios anteriores, por las limitaciones de los medios de cultivo y de técnicas de identificación bioquímica.

Uno de los objetivos al tratar una lesión de Caries Dentinaria, además de restaurar la estructura y función del diente, es la eliminación de la biomasa de dentina infectada dentro de la lesión. Por esta razón, es importante conocer la naturaleza microbiana que la constituye, así como, la distribución de estos microorganismos, a través de todas las zonas que abarca la lesión.

Para estudiar el contenido microbiano de la Dentina Cariada, la lesión puede ser dividida en dos zonas, de acuerdo a las características ultra-estructurales:

1. una zona superficial irreversiblemente desmineralizada, con un tejido de consistencia blanda, necrótico e infectado y
2. una zona más profunda, menos infectada, con un tejido reversiblemente desmineralizado(3).

A partir de la identificación de estas dos zonas bien definidas que determinan hábitats distintos, algunos estudios se han enfocado en analizar si existen o no diferencias en cuanto a los géneros y especies microbianas presentes.

También, la lesión de Caries Dentinaria de acuerdo a su localización puede clasificarse en: Caries Dentinaria Coronal y Caries Dentinaria Radicular.

### Microorganismos presentes en Dentina Cariada Coronal

El primer microbiólogo bucal que desarrolló técnicas de cultivo para el crecimiento y estudio de los microorganismos bucales, fue Miller(4) en 1890, quien descubrió la presencia de *Lactobacillus* en lesiones de Caries Dentinaria. Posteriormente, Clarke(5) en 1924, aisló por primera vez *Streptococcus mutans* a partir de muestras de Dentina Cariada. Así mismo, las investigaciones realizadas por Burnett y Scherp(6) en 1951, demostraron que, en las muestras de lesiones de Dentina Cariada, existe un predominio de microorganismos proteolíticos, en comparación con las lesiones de Caries de Esmalte. Posteriormente, en 1973 Loesche y Syed(7), aislaron microorganismos de Dentina Cariada, a través de medios de cultivos selectivos y no selectivos. Las especies aisladas en Dentina Cariada fueron las siguientes: *Streptococcus mutans* (26%), *Lactobacillus casei* (21%), *Actinomyces* (18%), *Veillonella* (7%) y otros organismos bacilos Gram- positivos (28%) no identificados. Hoshino(8) en 1985, identificó los microorganismos predominantes en lesiones de Caries Dentinaria de cuatro terceros molares permanentes, utilizando cultivos anaeróbicos, y demostró que la mayoría de los microorganismos aislados de ambas zonas de la lesión (zona profunda y zona superficial) fueron anaerobios estrictos, sugiriendo que las condiciones en la dentina eran estrictamente anaeróbicas. Los anaerobios estrictos predominantes fueron bacilos Gram-positivos los cuales se identificaron como: *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Arachnia*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, y *Actinomyces*. También fueron aislados bacilos Gram-negativos (*Bacteroides* y *Fusobacterium*) y cocos Gram-positivos (*Peptococcus*, *Peptostreptococcus* y *Streptococcus*), los cuales constituyeron la parte menor de la flora. El número de unidades formadoras de colonias (UFC) de la capa superficial de la lesión de Caries fue mayor que el de la capa profunda, en todas las muestras analizadas de lesiones de Caries. Estos estudios fueron realizados utilizando medios de cultivos selectivos y no selectivos, y técnicas de identificación bioquímica. Los estudios más recientes de microorganismos presentes en Dentina Cariada se basan en técnicas moleculares, como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP), que permite identificar, por amplificación del material genético (ADN), los diversos microorganismos presentes en una muestra clínica de Dentina Cariada(9).

Esta técnica ha sido empleada para caracterizar la microflora asociada con abscesos dentoalveolares, periodontitis e infecciones endodónticas, y en cada caso, se ha encontrado que las especies que no habían sido caracterizadas hasta ahora, constituyen una proporción substancial de la microflora presente(10, 11, 12).

Al comparar los resultados obtenidos utilizando medios de cultivo con los obtenidos con la RCP, se destacan las limitaciones de la primera técnica, como por ejemplo, que alrededor del 50% de la microflora bucal no crece en medios de cultivos artificiales(13,14), y además permite el crecimiento limitado de bacterias, dando lugar a una subestimación del número de bacterias presentes(15). En cambio, las técnicas moleculares tienen el potencial de cuantificar el ADN bacteriano y por lo tanto, el número de bacterias. Un método alternativo es a través, de la RCP a *tiempo real*, en la cual el progreso de la reacción en cadena de la polimerasa es registrada en tiempo real en cada ronda de replicación y además la cantidad de ADN en la muestra puede ser cuantificada, lo que permite obtener el número de especies bacterianas presentes(16).

Algunos estudios se han enfocado en aplicar tanto los medios de cultivo como la RCP, para comparar los resultados en cuanto a los microorganismos identificados con una técnica u otra. Entre estos estudios podemos citar el de Munson y col., (17)

quienes identificaron la microflora presente en 10 lesiones de Caries Dentinaria, a través de la combinación de cultivos (anaeróbicos y aeróbicos) y de RCP, además de comparar la composición de la microflora en las dos zonas de la lesión cariosa: en el frente de avance (zona profunda) y en el cuerpo principal (zona superficial). En el total de las 10 muestras evaluadas, las especies predominantes variaron de individuo a individuo. En las 10 muestras analizadas se encontraron 14 especies del género *Lactobacillus*. Las especies predominantes en los medios de cultivos anaeróbicos fueron *Propionibacterium*, *Olsenella profusa* y *Lactobacillus rhamnosus*. Mientras que, las especies predominantes por análisis molecular fueron *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus gasseri/johnsonii*, y *Lactobacillus rhamnosus*. Sólo tres especies fueron encontradas en todas las muestras: *Streptococcus mutans*, *Rothia dentocariosa* y *Propionibacterium*. No se encontraron diferencias significativas en la composición de la microflora en el cuerpo principal comparado con el frente de avance de las lesiones de Caries.

En el estudio realizado por Byun y col., (18) se llevo a cabo un análisis cuantitativo de la diversidad de especies de *Lactobacillus* presentes en 65 lesiones de Caries Avanzada, por medio de RCP a *tiempo real*. Entre los grupos dominantes de especies de *Lactobacillus* encontrados, se destacaron: *L. gasseri*, *L. ultunensis*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. crispatus*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum*, *L. paracasei* y *L. gallinarum*. En cuanto a la distribución de especies de *Lactobacillus* en las muestras de Caries Dentinaria, se observó que en el 68% de las muestras los miembros de *Lactobacillus* del grupo *casei*, en donde se incluyen *L. casei*, *L. paracasei* y *L. rhamnosus*, fueron las especies mas prevalentes, mientras que las especies menos prevalentes fueron *L. fermentum* (22%), *L. gallinarum* (9%), y *L. delbrueckii* (6%).

En cuanto a la cuantificación de especies de *Lactobacillus* y filotipos, entre las especies prevalentes identificadas por análisis poblacional de ADN, los análisis de RCP a *tiempo real* mostraron que *L. gasseri* y *L. ultunensis* estaban presentes en número mayor que las otras especies, con una carga promedio de 8,7.10<sup>6</sup> y 8,1.10<sup>6</sup> células por mg de peso húmedo de dentina, respectivamente, sugiriendo una asociación entre estas especies y la Caries Avanzada (Tabla 1). Estas dos especies también constituyeron la mayoría de *Lactobacillus* presentes en algunas muestras de dentina, sugiriendo que ellas pueden poseer una ventaja selectiva para la colonización y proliferación en la Dentina Cariada. Estos resultados coinciden con van Strijp y col., (19) quienes observaron altas proporciones de *Lactobacillus* en la dentina severamente desmineralizada; así como McGrady y col., (20) demostraron la alta afinidad que presenta *Lactobacillus* por la molécula de colágeno tipo I presente en la dentina.

**Tabla 1. Lactobacillus detectados en dentina cariada por RCP**

[ [HAGA CLICK AQUÍ PARA VER LA TABLA](#) ]

Fuente: Newman; Takei; Carranza, 2004 7; Salinas M 53; Jan Lindhe, 200152.

**Tabla 2. Especies identificadas en 10 lesiones de caries dentinaria**

[ [HAGA CLICK AQUÍ PARA VER LA TABLA](#) ]

Tomado de Chhour y col., 2005

Los análisis también revelaron asociaciones positivas entre *L. gasseri* y *L. salivarius*, *L. gasseri* y *L. rhamnosus*, indicando que la presencia de una de estas especies en el sitio de la lesión, puede estar asociada con la colonización y proliferación de la otra especie(18).

Estos hallazgos nos proporcionan información sobre la diversidad de *Lactobacillus* presentes en la Dentina Cariada, por lo cual deben ser determinadas las interacciones sinérgicas y antagónicas de los *Lactobacillus* dentro de estas lesiones(18).

Nadkarni y col.,(21) identificaron los microorganismos presentes en 65 lesiones de Caries Avanzada, a través de cultivos y de RCP a tiempo real, y demostraron la alta incidencia y cantidad de especies de anaerobios Gram-negativos, específicamente, de *Prevotella*, que en algunos casos pudo llegar a dominar la comunidad polimicrobiana asociada con la Dentina Cariada. Esto coincide con otros estudios reportados por Hahn y col.,(22) y Massey y col.,(23) quienes demostraron la presencia de bacterias anaeróbicas Gram-negativas y proteolíticas del género *Prevotella* en Dentina Cariada, por medio de técnicas moleculares.

Con estos hallazgos señalados anteriormente queda demostrado que con el uso de medios de cultivos anaeróbicos para el crecimiento de microorganismos aislados de Dentina Cariada, se ha desestimado significativamente la presencia de *Prevotella* y otras especies anaerobias. Además, los resultados de cultivos y de las pruebas bioquímicas, han revelado discrepancias en el número de organismos de *Prevotella* y en la falta de reconocimiento de las formas bucales de este género(21).

Chhour y col., (14) en 2005, realizaron un estudio identificando la microflora de la Dentina Cariada por RCP a *tiempo real*, en 10 lesiones seleccionadas sobre la base de una carga microbiana total comparable y sobre la abundancia relativa de

*Prevotella*, es decir muestras de: Grupo Alto en *Lactobacillus*, Grupo Medio *Lactobacillus-Prevotella*, Grupo Alto *Prevotella* y Grupo Bajo *Lactobacillus-Prevotella* (Tabla 2). Los análisis filogenéticos de 942 secuencias de amplicones del ARNr 16S, demostraron la presencia de 75 especies en las 10 lesiones de caries. Se encontró una diversidad de especies de *Lactobacillus*, que constituirían el 50% y los nueve filotipos de *Lactobacillus* observados con mayor frecuencia fueron: *L. casei*, *L. fermentum*, *L. panis*, *L. gasserii*, *L. delbrueckii*, *L. ultunensis*, *L. crispatus*, *L. salivarius*, *L. nagelli*. Por otra parte, *Prevotella* constituyó el 15% de las especies encontradas. Otros microorganismos presentes en las muestras de Dentina Cariada incluyeron: *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium*, *Lachnospiraceae*, *Olsenella*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* y *Pseudoramibacter alactolyticus*.

Este predominio de *Lactobacillus* en las muestras de Dentina Cariada coincide con los reportes Munson y col., (17) y de Byun y col., (18) e indican que es posible que la colonización temprana de la matriz dentinaria por *Lactobacillus* es favorecida por una dieta abundante en carbohidratos que, una vez fermentados, crean un medio ácido el cual excluye la colonización posterior de otras especies. La exclusión también puede depender de los subproductos de la fermentación de algunos de estos *Lactobacillus*(14).

Pero, además de la evidente presencia de cantidades considerables de especies del género *Lactobacillus* en lesiones de Caries Avanzada, otros estudios como el de Becker y col.,(24) compararon las bacterias encontradas en la cavidad bucal de un grupo de 30 niños con caries y 30 niños sin caries, en edades comprendidas entre 2 y 8 años. Los autores reportan al *Bifidobacterium* como la especie bacteriana (identificada a través de RCP) mas numerosa (5.10(7) a 4.10(9) células bacterianas) en las lesiones dentinarias profundas y no profundas, sobrepasando en cantidad, tanto al *S. mutans* como al *L. fermentum*. Estos resultados sugieren a *Bifidobacterium* como el patógeno principal en las lesiones de Caries Avanzada en niños. Crociani y col., (25) examinaron cepas de *Bifidobacterium* aisladas de muestras de lesiones de caries, e identificaron tres especies diferentes: *B. dentium*, *B. inopinatum* y *B. denticolens*.

En el estudio de Becker y col., (24) se detectó la presencia de gran cantidad de *Streptococcus mutans* en todas las lesiones de Caries Avanzada y en menor cantidad de *S. salivarius*, *S. parasanguinis* y *S.constellatus*. Este último hallazgo no concuerda con estudios anteriores, como los de Loesche & Syed., (7) y Hoshino y col., (26) los cuales señalan que *Streptococcus mutans*, en áreas profundas de Dentina Cariada sólo constituye una pequeña parte de la flora microbiana.

#### Microorganismos presentes en Dentina Cariada Radicular

Osaki y col., (27) en 1994, emplearon técnicas inmuno-histoquímicas, para detectar los microorganismos asociados con Caries Coronal y Caries Radicular. En las muestras de Caries Dentinaria, en fisura y superficie coronal lisa, se encontró que *Streptococcus mutans*, fue la especie predominante en la Dentina de la fisura y de la superficie lisa, con mayor número en las capas superficiales y medias de la Dentina en comparación con la Dentina profunda. *Actinomyces naeslundii* fue la especie asociada con la invasión dentinaria en Caries Radicular y con alto predominio en la Dentina superficial, media y profunda.

Posteriormente, en 1996 Schüpbach y col., (15) identificaron los microorganismos presentes en 14 lesiones de Caries Radicular, con diferentes grados de severidad, utilizando cultivos anaeróbicos. En el caso de las lesiones Dentinarias Avanzadas, los autores reportaron en porcentaje de contaje total de bacterias un 99,4 % de bacterias Gram-positivas y un 0,6 % de bacterias Gram-negativas (*Prevotella*, *Selenomonas* y *Bacteroides*).

El 74,6% de las bacterias aisladas fueron anaerobias facultativas, mientras que las anaerobias estrictas constituyeron el 25,4% de las UFC. Entre las bacterias Gram-positivas, el *Streptococcus* fue la mas abundante (35,6% UFC), siendo *S.mutans* y *S.anginosus* las mas numerosas con 23,1% y 12% de UFC, respectivamente. En orden decreciente también se identificaron cepas de *Staphylococcus* (*S. epidermidis*, *S. hominis*), *Eubacterium sabbureum*, *Lactobacillus*, *Actinomyces israeli* y *Prevotella denticola*(15).

Cabe destacar en este estudio, la gran cantidad reportada de especies de *Streptococcus*, en contraste, con el bajo porcentaje de especies de *Lactobacillus* y *Actinomyces* encontradas en lesiones de Caries Dentinaria Radicular Avanzada. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Brailsford y col., (28) quienes analizaron los microorganismos presentes en 9 lesiones de Caries Dentinaria Radicular, utilizando medios de cultivos bajo condiciones de aerobiosis y anaerobiosis, e identificadas por pruebas bioquímicas, logrando identificar *A. israelii*, *A. gerencseriae*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus* y *A. georgiae*. Otras especies también se encontraron en estas lesiones, como el caso de *Lactobacillus*, aislado de las 9 muestras de lesiones de caries, así como *Cándida*, aislada de 8 muestras, y *Streptococcus mutans*, aislada en 5 de las 9 muestras de lesiones. En cuanto a las especies de *Actinomyces*, se encontró *A. gerencseriae* en todas las muestras, *A. israelii* y *A. naeslundii* se encontraron en 7 de 9 muestras, y *A. georgiae* y *A. odontolyticus* solo en una lesión de caries. En este estudio se demostró la presencia de *Actinomyces* en la totalidad de las muestras tomadas, y además una variación considerable en la microflora de las lesiones, lo que soporta la etiología bacteriana no específica de la destrucción dentinaria. La comunidad microbiana asociada con la destrucción dentinaria debe poseer cualidades fisiológicas que colectivamente dan lugar a la destrucción del tejido(28).

En los estudios de Brailsford y col., (28) Aamdal y col., (29) y Schüpbach y col., (30) se ratifica la heterogeneidad de la población de *Actinomyces* presentes en las lesiones de Caries Radicular. Esto aumenta la posibilidad que la desmineralización y la destrucción del componente orgánico de la Dentina Radicular puede estar mediado por la acción de una comunidad microbiana con diferente composición, pero con la misma actividad fisiológica, es decir, la destrucción no está dada por una

especie específica, por lo que la actividad fisiológica de una comunidad bacteriana es más importante que la presencia de una especie particular.

#### **Microorganismos presentes en Dentina Cariada asociados a Patología Pulpar.**

Además de los estudios dedicados a la identificación de los microorganismos presentes en las lesiones de Caries Dentinaria, tanto a nivel Coronal como Radicular, también existe interés por identificar aquellos microorganismos invasores del tejido pulpar, responsables del origen de las infecciones endodónticas iniciadas por Caries Dentinaria. En este sentido, Martín y col., (16) correlacionaron las bacterias identificadas en lesiones de Caries Dentinaria con la respuesta tisular del tejido pulpar de 65 dientes extraídos de pacientes con Caries Avanzada y Pulpitis. Para ello, emplearon cultivos bajo condiciones de anaerobiosis y microaerofilia, y RCP a *tiempo real*. La patología pulpar fue categorizada según la respuesta celular y los cambios degenerativos. Los resultados de este estudio demostraron por conteo de colonias, un predominio de microorganismos Gram-positivos, específicamente *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Actinomyces*. También identificaron un número significativo de bacterias Gram-negativas, siendo *Prevotella* la más abundante, seguida por *Porphyromona melaninogenica* y *Fusobacterium nucleatum*. Las bacterias detectadas por RCP a *tiempo real* fueron: *Prevotella*, *P. melaninogenica*, *Fusobacterium*, *Micromonas micros* (*Peptostreptococcus*), *Porphyromonas endodontalis* y *Porphyromonas gingivalis*. La relación entre la presencia específica de ciertas especies bacterianas, con los cambios degenerativos inflamatorios a nivel de tejido pulpar, evidenció una correlación positiva entre la detección de *M. micros* y *P. endodontalis* y la degeneración inflamatoria del tejido pulpar. Estas bacterias anaeróbicas están implicadas en infecciones endodónticas que ocurren como secuela de una Pulpitis por Caries. De acuerdo a esto, los datos sugieren que la presencia de alto conteo de estas bacterias en lesiones de Caries puede indicar una patología pulpar irreversible(16).

#### **Microorganismos invasores de la Dentina**

Más de 300 especies bacterianas son reconocidas como componentes de la microflora bucal. Sin embargo, son pocas las especies bacterianas capaces de invadir los túbulos dentinarios y sobrevivir dentro del medio intratubular. La evidencia reciente sugiere que *Streptococcus* puede reconocer receptores específicos en la molécula del colágeno tipo I, componente presente a nivel de la dentina peritubular, estimulando la adhesión bacteriana y crecimiento bacteriano intratubular. También, ciertas interacciones específicas de otras bacterias bucales pueden facilitar la invasión de la dentina por grupos bacterianos selectivos(31).

El proceso de descalcificación de los túbulos dentinarios por ácidos orgánicos producidos por algunas especies de *Streptococcus* y *Lactobacillus*, aparentemente puede ser complementado por la degradación proteolítica de la matriz dentinaria, ya sea por la acción de proteinasas microbianas no caracterizadas o por la actividad proteolítica de los odontoblastos(31).

Esto coincide con Schüpbach y col., (15) quienes señalaron que primero ocurre la desnaturalización del colágeno debido a un medio ácido, ocasionado por bacterias acidogénicas y acidúricas, como los *Lactobacillus* y *Streptococcus*, y luego ocurre una degradación del colágeno por las enzimas proteolíticas, derivadas principalmente de bacterias Gram-negativas como *Prevotella*, *Bacteroides* y *Capnocytophaga*.

Pero, no se debe olvidar la acción simultánea de una comunidad bacteriana compleja. Nagaoka y col., (32) estudiaron la habilidad de invadir la dentina de cultivos mixtos de bacterias asociados con Caries Radicular y Coronal, los análisis de sus datos sugieren que la invasión de *L. casei* fue facilitado cuando se co-cultivaron con *S. sobrinus* o *A. naeslundii*. También, la invasión de los túbulos dentinarios por *P. gingivalis* fue promovida cuando se co-cultivaron con *S. gordonii*. Estos experimentos demuestran que las bacterias pueden competir para invadir los túbulos dentinarios, y también pueden cooperar entre ellos en la invasión, ambas interacciones pueden ser significativas en determinar la infección tubular resultante(31).

Así mismo, Noorda y col., (33) demostraron que la combinación de *Veillonella* y *S. mutans* permitió una mayor producción de ácido y mayor desmineralización que el *S. mutans* solo. También ha sido demostrado que especies de *Veillonella* estimulan la glicólisis de *S. salivarius*(34).

Finalmente, Chhour y col., (14) sugieren que la composición bacteriana de los grupos dominantes puede depender de los primeros eventos, que incluyen la invasión por especies presentes en la Placa supragingival que se encuentra sobre la superficie dentaria, la contaminación con saliva y la fuente dietética. La progresión de la lesión depende de la naturaleza y la abundancia de los organismos acidogénicos y acidúricos y, al menos inicialmente, por la continua disponibilidad de carbohidratos fermentables provenientes de la dieta. La migración de bacterias proteolíticas hacia la proximidad de la cámara pulpar, para tomar los nutrientes adicionales, puede conducir a la fase final de la lesión de Caries y resultar en muerte pulpar y penetración de la bacteria al interior de la cámara pulpar. En concordancia con esto, la composición y el potencial patógeno de las poblaciones bacterianas posteriormente asociadas con infecciones endodónticas, podrían estar determinadas por los primeros eventos que ocurren en el establecimiento de la lesión de Caries Dentinaria

#### **Conclusiones**

Se ha podido demostrar en las lesiones de Caries Avanzada la presencia de una compleja y diversa comunidad bacteriana

representada por muchas especies, donde destacan tanto Gram-positivas como Gram-negativas, y anaerobios facultativos y estrictos. Entre las especies identificadas podemos citar: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Porphyromona*, *Rothia*, *Arachnia*, *Micromonas*, *Selenomonas*, *Olsenella*, *Pseudoramibacter*.

En las dos zonas que conforman la lesión de Caries Dentinaria, el cuerpo de la lesión o capa superficial y el frente de avance de la lesión o zona profunda, se ha observado una mayor carga bacteriana a nivel de la capa superficial con respecto a la capa profunda. En cuanto a las especies presentes en ambas zonas no existen diferencias significativas.

A través de las técnicas moleculares de identificación y cuantificación bacteriana en las lesiones de Caries Dentinaria se han identificado microorganismos que eran subestimados o no reconocidos por los métodos de cultivos y pruebas bioquímicas, como es el caso de *Prevotella* y *Bifidobacterium*.

Los reportes de la investigación en este campo indican la necesidad de identificar y caracterizar, en su totalidad, la microbiota presente en las lesiones de Caries Dentinaria, así como el estudio de las interacciones bacterianas que determinan los eventos responsables de la progresión de la lesión y la destrucción del tejido dentinario. Al conocer la naturaleza de estas interacciones antagónicas y sinérgicas pudiéramos encontrar mecanismos que inhiban y regulen la progresión de la Caries.

#### REFERENCIAS

1. Fejerskov O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol* 1997; 25:5-12.
2. Fitzgerald RJ y Keyes PH. Demonstration of the etiologic role of *streptococci* in experimental caries in the hamster. *JADA* 1960; 61:9-19
3. Fusayama T. Two Layers of Carious Dentin: Diagnosis and Treatment. *Oper Dent* 1979; 4 :63-70
4. Miller WD. (1890) *Microorganisms of the Human Mouth*. Unaltered reprint with an introductory essay by KG König (Nijmegen) Basilea; S. Karger. 1973
5. Clarke JK. On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *J Exp Pathol*;1924; 5: 141
6. Burnett GW, Scherp HW. The distribution of proteolytic and aciduric bacteria in the saliva and in the carious lesion. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol* 1951; 4: 469-477
7. Loesche WJ, Syed SA. The Predominant Cultivable Flora of Carious Plaque and Carious Dentine. *Caries Res* 1973;7: 201-216
8. Hoshino E. Predominant obligate anaerobes in human carious dentin. *J Dent* 1985; 64:1195-1198
9. Wade WG. Unculturable bacteria-the uncharacterised organisms that cause oral infections. *J R Soc Med*; 2002; 95:81-83.
10. Dymock DA, AJ Weightman, C Scully y WG Wade. Molecular analysis of microflora associated with dentoalveolar abscesses. *J Clin Microbiol*. 1996; 34:537-542
11. Munson MA, T Pitt-Ford, B Chong, AJ Weightman y WG Wade. Molecular and cultural analysis of the microflora associated with endodontic infections. *J Dent Res* 2002; 81: 761-766
12. Paster BJ, SK Boches; JL Galvin, RE Ericson, CN Lau, VA Levanos, A Sahasrabudhe y FE Dewhirst. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001; 183: 3770-3783
13. Wilson MJ, AJ Weightman y WG Wade. Applications of molecular ecology in the characterisation of uncultured microorganisms associated with human disease. *Rev Med Microbiol* 1997; 8: 91-101.
14. Chhour K-L, Nadkarni MA, Byun R, Martin FE, Jacques NA y Hunter N. Molecular Analysis of



- Microbial Diversity in Advanced Caries. J Clin Microbiol 2005; 43,(2): 843-849.
15. Schüpbach P, Osterwalder V y Guggenheim B. Human Root Caries: Microbiota of a Limited Number of Root Caries Lesions. Caries Res 1996; 30: 52-64.
  16. Martin FE, Nadkarni MA; Jacques NA y Hunter N. Quantitative Microbiological Study of Human Carious Dentine by Culture and Real-Time PCR: Association of Anaerobes with Histopathological Changes in Chronic Pulpitis. J Clin Microbiol. 2002; 40(5): 1698-1704
  17. Munson MA, Banerjee A, Watson TF y Wade WG. Molecular Analysis of the Microflora Associated with Dental Caries. J Clin Microbiol 2004; 42 (7): 3023-3029.
  18. Byun R, Nadkarni MA, Chhour K-L, Martin FE, Jacques NA y Hunter N. Quantitative Analysis of Diverse *Lactobacillus* Species Present in Advanced Dental Caries. J Clin Microbiol. 2004; 42(7): 3128-3136.
  19. van Strijp AJP, van Steenberghe TJM, ten Cate JM. Bacterial Colonization of Mineralized and Completely Demineralized Dentine in situ. Caries Res. 1997; 31: 349-355
  20. McGrady JA, Butcher WG, Beighton D, Switalski LM. Specific and charge interactions mediate collagen recognition by oral lactobacilli. J Dent Res 1995; 74:649-657
  21. Nadkarni MA, Caldon CE, Chhour K-L, Fisher IP, Martin FE, Jacques NA y Hunter N. Carious Dentin Provides a Habitat for a Complex Array of Novel *Prevotella*-Like Bacteria. J Clin Microbiol 2004; 42(11): 5238-5244
  22. Hahn CL, WA Falkler Jr. y GE Minah. Microbiological studies of carious dentine from human teeth with irreversible pulpitis. Arch Oral Biol 1991; 36:147-153
  23. Massey WL, DM Romberg, N Hunter y WR Hume. The association of carious dentin microflora with tissue changes in human pulpitis. Oral Microbiol Immunol 1993; 8:30-35
  24. Becker MR, Paster BJ, Leys EL, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, y Griffen AL. Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries. J Clin Microbiol 2002; 40(3): 1001-1009
  25. Crociani F, Biavatti B, Alessandrini A, Chiarini C, y Scardovi V. *Bifidobacterium inopinatum* sp. nov. and *Bifidobacterium denticolens* sp. nov., Two New Species Isolated from Human Dental Caries. Int J Syst Bacteriol 1996; 46(2): 564-571
  26. Hoshino E, Horigome T, Kagawa R, Kaketa A, Okuda R. Species identification of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Actinomyces* isolated from human carious dentine. Jpn J Oral Biol 1984; 26: 496-501
  27. Osaki K, Matsuo T, Nakae H, Noiri Y, Yoshiyama M, Ebisu S. A quantitative comparison of selected bacteria in human carious dentine by microscopic counts. Caries Res 1994; 28: 137-145
  28. Brailsford SR, Tregaskis RB, Leftwich HS, y Beighton D. The Predominant *Actinomyces* spp. Isolated from Infected Dentin of Active Root Caries Lesions. J Dent Res 1999; 78(9): 1525-1534
  29. Aamdal-Scheie A, Luan W-M, Dahlén G, y Fejerskov O. Plaque pH and Microflora of Dental Plaque on Sound and Carious Root Surfaces. J Dent Res 1996; 75(11): 1901-1908
  30. Schüpbach P, Osterwalder V, Guggenheim B. Human Root Caries: Microbiota in Plaque Covering Sound, Carious and Arrested Carious Root Surfaces. Caries Res 1995; 29: 382-395
  31. Love RM y Jenkinson HF. Invasion of Dentinal Tubules by Oral Bacteria. Crit Rev Oral Biol Med 2002; 13(2): 171-183

32. Nagaoka S, Liu H-J, Minemoto K, Kawagoe M. Microbial induction of dentinal caries in human teeth *in vitro*. J Endodont 1995; 21:546-551
33. Noorda WD, DJ Purdell-Lewis, AM van Montfort, y AH Weerkamp. Monobacterial and mixed bacterial plaques of *Streptococcus mutans* and *Veillonella alcalescens* in an artificial mouth: development, metabolism, and effect on human dental enamel. Caries Res 1988; 22: 342-47
34. Hamilton IR y SKC Ng. Stimulation of glycolysis through lactate consumption in a resting cell mixture of *Streptococcus salivarius* and *Veillonella parvula*. FEMS Microbiol Lett 1983; 20:61-65