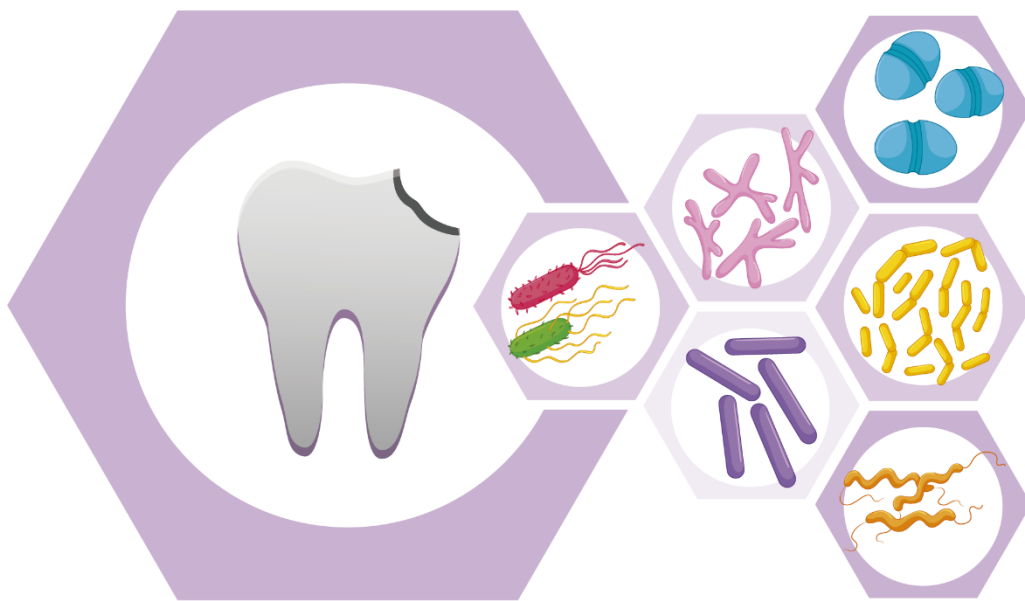


MICROORGANISMOS Y CARIES DENTAL



Belén Aragón Marín
Facultad de Farmacia
Universidad de Sevilla



TRABAJO FIN DE GRADO

Universidad de Sevilla | Facultad de Farmacia
GRADO EN FARMACIA

MICROORGANISMOS Y CARIES DENTAL

Revisión bibliográfica

Autor: Belén Aragón Marín

Tutor: Miguel Ángel Caviedes Formento

Departamento de Microbiología y Parasitología

Sevilla, Julio 2019



Índice

1. RESUMEN	4
2. INTRODUCCIÓN	5
2.1 Concepto de caries dental.....	5
2.2 Clasificación o tipos de caries.....	5
2.3 Etiopatogenia	8
2.3.1 Microbiota de la cavidad oral.....	9
2.3.2 Morfología de la pieza dentaria	12
2.3.3 Cómo influye la dieta	12
2.3.4 El factor tiempo.....	13
2.4 Justificación del tema	14
3. OBJETIVOS	14
4. METODOLOGÍA.....	15
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
5.1 Principales grupos de microorganismos	17
5.1.1 <i>Streptococcus</i>	17
5.1.2 <i>Lactobacillus</i>	21
5.1.3 <i>Actinomyces</i>	23
5.1.4 <i>Bifidobacterium</i>	24
5.1.5 <i>Prevotella</i>	25
5.1.6 <i>Veillonella</i>	25
5.1.7 <i>Fusobacterium</i>	26
5.1.8 Otros microorganismos.....	27
5.2 Métodos de identificación bacteriana y limitaciones	28
5.3 Profilaxis de la enfermedad y posibles tratamientos.....	30
6. CONCLUSIONES	33
7. BIBLIOGRAFÍA	35



1. RESUMEN

El estudio de la caries dental es un ámbito tan complejo que se ha clasificado como una disciplina científica en sí, la etiopatogenia de esta enfermedad se basa en cuatro factores fundamentales: las bacterias, el diente, la dieta y el tiempo. Esta enfermedad se caracteriza por una pérdida de mineral óseo debido a un incremento del ácido, causado por la actividad metabólica bacteriana. En la boca existen bacterias comensales que, con el aporte de grandes cantidades de azúcares, provocan una disbiosis convirtiéndose en patógenas.

Hay relación entre varios géneros microbianos y la aparición de caries, pero no existe una única especie bacteriana causante de esta enfermedad, por esto, se entiende como una alteración del *biofilm* que ya está presente de manera natural en estado de salud.

Los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus*, entre otros, se relacionan con la colonización inicial de las piezas dentarias, posteriormente se produce agregación de otros géneros como *Actinomyces* y *Fusobacterium* que se anclan a esta matriz previamente formada.

La capacidad para la formación de moléculas extracelulares como glucanos, tolerar el ambiente ácido o fermentar gran variedad de azúcares con producción de elevadas cantidades de ácidos han sido identificados como factores de virulencia en las especies bacterianas.

El uso de métodos adecuados como la pirosecuenciación del ARNr 16s permiten conocer qué bacterias se encuentran activas en los procesos cariosos, siendo importante esto a la hora de establecer un tratamiento adecuado. No obstante, las medidas de prevención son fundamentales en esta enfermedad.

Palabras clave: caries dental, microbiota oral, *Streptococcus*, profilaxis.



2. INTRODUCCIÓN

2.1 Concepto de caries dental

La caries dental es una enfermedad infecciosa multifactorial y crónica. Se caracteriza por la destrucción de los tejidos duros del diente bajo la acción de los ácidos producidos por una fermentación bacteriana de los glúcidos alimentarios. Es difícil atribuir la causa de la caries a un único factor, siendo la suma de varios de ellos el desencadenante de la misma. Se define como una enfermedad de origen bacteriano, transmisible y compleja, en la que intervienen, además de las bacterias, otros factores del propio paciente.

Otros autores, sin embargo, la consideran una enfermedad ecológica y no contagiosa atendiendo al hecho de que no existe un único microorganismo causal y a que esos mismos microorganismos causales, están presentes tanto en pacientes sanos como en enfermos, siendo la alteración del equilibrio “parásito-huésped” la causa (Simón-Soro y Mira, 2015).

Además, epidemiológicamente hablando es una enfermedad importante, afecta a todo tipo de poblaciones existiendo una prevalencia muy variable en la edad temprana (60-90% de los niños) y rozando el 100% de prevalencia en la edad adulta (Pérez *et al.*, 2016).

2.2 Clasificación o tipos de caries

La caries dental puede afectar de manera diferente a las estructuras que forman la pieza dental, además la localización y tipo de caries está íntimamente relacionado con el *biofilm* cariogénico, siendo bastante heterogéneo para cada tipo de lesión. La microbiota causante de la caries varía muy significativamente en función de la localización o la progresión de la lesión (Figueroa-Gordon *et al.*, 2009).

La propia estructura de la boca dicta en una medida sorprendente la composición bacteriana de los diversos ecosistemas del *biofilm*. La disposición en el espacio y el tipo de tejido que forman la cavidad oral, hacen que existan diferentes nichos por los que tienen preferencia unas bacterias u otras (He *et al.*, 2015). En este caso particular nos centramos en las piezas dentarias,



cada diente consiste en: una parte aérea, en contacto con la saliva, alimentos y exterior denominada corona. La segunda parte está anclada por una matriz de colágeno a la encía y se denomina raíz. Ambas partes de la pieza están constituidas por tres estratos: esmalte, dentina y pulpa. La corona se caracteriza por tener una gran capa de esmalte, es decir, tejido mayoritariamente duro, y la raíz, sin embargo, posee nervios y vasos sanguíneos (Negróni, 2009).

Si clasificamos las caries en función de la localización en los tejidos afectados podemos diferenciar claramente la lesión que se limita exclusivamente al esmalte y la lesión que afecta a dentina o pulpa dental e incluso a la raíz.

- Caries de esmalte en superficies libres: la microestructura de hidroxapatita ($(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$) que forma el diente es alterada ya que hay una pérdida progresiva de iones fosfato y calcio. La lesión inicial comienza cuando se da una disminución del pH, consecuencia de la actividad metabólica de la biopelícula cariogénica. Así, se da lugar a un proceso de desmineralización, que si no es frenada va ampliándose de manera estratificada hacia el interior de la pieza dentaria. Dentro del cono de lesión se encuentran cuatro capas:
 - Zona translúcida: es la zona donde se produce activamente el equilibrio desmineralización – remineralización. Aquí los iones de fosfato y calcio procedentes de otras partes de la lesión se van anclando de nuevo a la matriz. Esta es la zona que queda siempre en el interior de la lesión.
 - Zona oscura: es la que determina el avance de la lesión, se encuentra desmineralizada y caracterizada microscópicamente con poros y fisuras.
 - Cuerpo de la lesión: es la zona dañada en sí, donde hay mayor porcentaje de desmineralización, los espacios dejados por la pérdida de material inorgánico son ocupados por otros materiales como agua o bacterias cariogénicas.
 - Capa superficial: es la zona más externa y se encuentra re-mineralizada gracias al calcio procedente de la saliva y de otras partes de la lesión que es depositado en esta zona superficial (Wood *et al.*, 2009).



En la figura 1 se puede ver un esquema de la evolución de la caries de dentina y la localización de la caries de puntos y fisuras así como la caries de raíz.

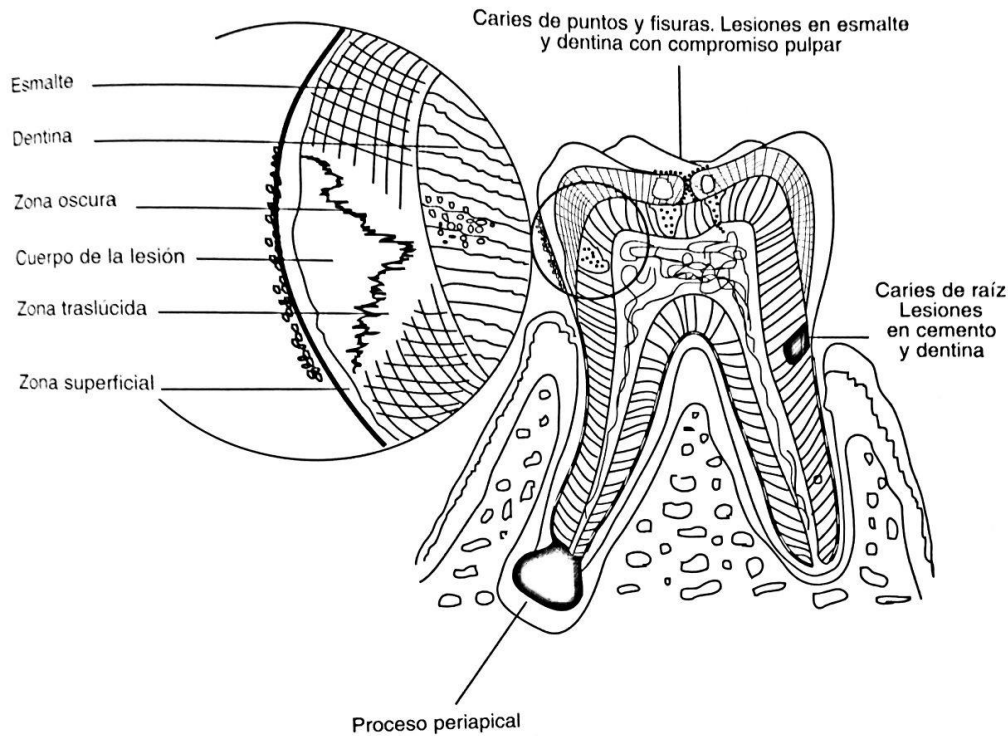


Figura 1 - Localización de los diferentes tipos de caries. Tomado de Negroni, 2009.

- Caries de dentina: suele producirse como progresión de la caries de esmalte, también tiene forma de cono y por su localización tiene mayor gravedad ya que afecta a más tejido no solo a la matriz de hidroxapatita.
- Caries de puntos y fisuras: son aquellas que se localizan en los surcos y las fosas de las piezas dentarias. Estas alteraciones del relieve de los dientes son ecosistemas por sí solos debido a que el acceso es más complejo para los dispositivos de limpieza dentaria.
- Caries de raíz: estadio final de una lesión cariosa de esmalte o dentina. Aquí, además, hay destrucción de tejido nervioso y sanguíneo pudiendo ser foco de infección para enfermedades secundarias (Zhu *et al.*, 2018).

Numerosos trabajos muestran una relación causal entre la microbiota bacteriana de la cavidad oral y la carie dental. Se ha demostrado que dependiendo de la localización de la misma, las especies bacterianas causantes de la enfermedad son distintas (Hoceini *et al.*, 2016).



2.3 Etiopatogenia

Inicialmente, la caries dental se consideró como una enfermedad causada por tres factores principales: los microorganismos, el sustrato (azúcares fermentables por los microorganismos) y el diente. Posteriormente, se han añadido más factores que condicionan en mayor o menor medida la aparición de caries dental como, por ejemplo, el factor tiempo, saliva y la capacidad de tamponamiento, entre otros. La relación existente entre los factores que pueden causar, o que condicionan la aparición de la caries dental los recogieron Kidd y Fejerskov en el esquema que se muestra en la figura 2:

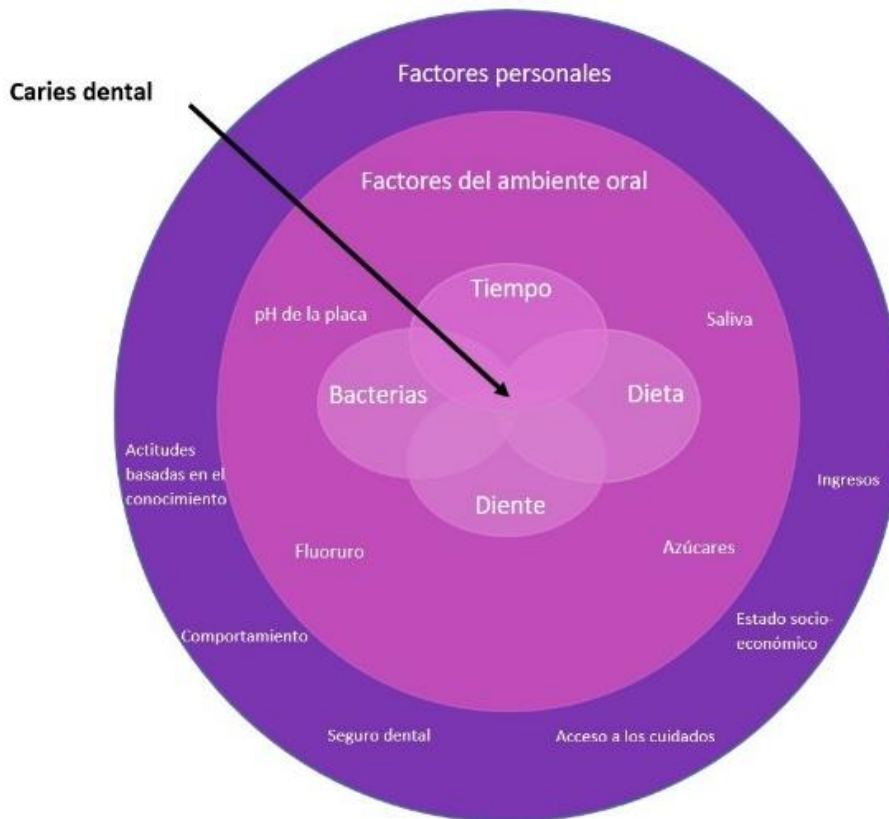


Figura 2 - Etiología de la caries dental. Adaptación de Kidd y Fejerskov, 2016.

No obstante, se ha demostrado que no todos los factores que intervienen en la enfermedad lo hacen con igual relevancia, siendo los primeros (representados en la imagen en la zona más



interna) de mayor peso en el desarrollo de la enfermedad. Tal es así, que en ratas con ausencia de microbiota no se produce la formación de caries en las piezas dentales (Banas y Drake, 2018).

La caries es el resultado de un cambio de la actividad metabólica de los microorganismos acompañada de un cambio en la ecología del *biofilm* dental, provocando la pérdida del equilibrio entre el mineral del diente y el *biofilm* (Pretty *et al.*, 2016). El problema comienza tras la ingesta de azúcares fermentables por los microorganismos presentes en el *biofilm*, especialmente sacarosa, glucosa y fructosa que dan lugar a glucanos y fructanos (Spicer, 2009).

Otros azúcares fácilmente fermentables por las bacterias son la lactosa y la maltosa. Los glucanos y fructanos en condiciones de anaerobiosis se metabolizan hasta ácidos, mayoritariamente, láctico, fórmico, propiónico y acético, cuya presencia origina una disminución considerable del pH. Los protones penetran la cara más externa de la superficie del esmalte disolviendo parcialmente la matriz de hidroxiapatita, por desplazamiento de iones fosfato y calcio que contrarrestan la bajada de pH. El retorno a unos niveles de pH basales se ve ayudado por el efecto amortiguador procedente de la saliva circulante. En un esmalte sano, tras 15 minutos de la ingesta de azúcares, el pH se restaura a un pH basal, siendo este tiempo cercano a los 30 minutos en un esmalte dañado. Se considera como punto crítico un pH inferior a 5,5 ya que la exposición a largo plazo de este ambiente facilita el crecimiento de bacterias acidouricas y acidogénicas (Sharma *et al.*, 2018).

Esta desestructuración en la matriz dentaria es la que se denomina mancha blanca y puede ser revertida en el proceso de mineralización. Factores que favorecen esta mineralización son, por ejemplo, la capacidad tampón de la saliva o la eliminación mecánica del *biofilm* mediante el cepillado. Si no es frenada, la lesión inicial se va ampliando hasta llegar a un punto irreversible implicando pérdida de gran cantidad de mineral.

2.3.1 Microbiota de la cavidad oral

La cavidad bucal como nicho ecológico alberga alrededor de 5 zonas donde se encuentra el microbioma bucal: los dientes, la saliva, las superficies dorsal y lateral de la lengua, la superficie de la mucosa bucal y los surcos gingival y periodontal (García-Castro *et al.*, 2017).

Las bacterias que habitan en la cavidad oral forman grupos suspendidos en una sustancia mucilaginosa, encapsuladas en una matriz de polisacáridos, proteínas y ADN secretados por



dichos microorganismos que las protege frente a la desecación, de los mecanismos de defensa del hospedador y les confiere resistencia frente a agentes antimicrobianos (Lamont *et al.*, 2014).

El *biofilm* oral, como cualquier *biofilm*, es un ecosistema de microorganismos adheridos a una superficie mediante interacciones con dicha superficie. Además de la superficie a la cual están adheridos, el *biofilm* está conformado por diversos polímeros extracelulares que favorecen la adherencia y envuelven a las agrupaciones bacterianas. En el caso específico del *biofilm* oral, las bacterias que se adhieren a la pieza dentaria mediante proteínas y glicoproteínas procedentes de la saliva y otras secreciones orales, se denominan colonizadoras primarias.

Posteriormente a estas primeras bacterias se agregan otras llamadas colonizadoras secundarias. El *biofilm* es un ecosistema dinámico ya que la composición y actividad del mismo varía en función de las condiciones fisiológicas del individuo. Otro factor determinante del *biofilm* es la actividad metabólica del mismo que viene caracterizada por las enzimas extracelulares que los microorganismos vierten al exterior y que tienen funciones específicas como por ejemplo degradar los azúcares, sustratos del metabolismo bacteriano, ayudando al desarrollo y mantenimiento de dicha biopelícula. También es muy determinante la distribución espacial de los microorganismos en este ecosistema (Simón-Soro y Mira, 2015).

Con la erupción de los dientes, el *biofilm* se desarrolla en las superficies dentales expuestas, las cuales están cubiertas por una película amorfa, casi invisible compuesta principalmente por glicoproteínas salivales. De no tomarse medidas de higiene oral, las superficies de los dientes acumulan grandes masas microbianas, mientras que la descamación de células epiteliales no permite la acumulación en las superficies de la mucosa oral (Hernández Viguera, 2015).

El proceso de formación del *biofilm* oral puede resumirse en 5 etapas principales (Marsh, 2004):

- Formación de la película adquirida: tras la limpieza, el diente queda envuelto en una capa de glicoproteínas procedentes de la saliva, por un fenómeno de adsorción. Esta película adquirida es de espesor variable (0,1 y 3 μm) y presenta un alto contenido de grupos carboxilo y sulfatos, lo que incrementa la carga negativa del esmalte.
- Colonización bacteriana: fijación de las bacterias.
- Co-agregación de otras especies bacterianas.
- Multiplicación y formación de la biopelícula.



- Maduración de la placa: creación de una matriz extracelular compleja formada por glucanos solubles e insolubles, fructanos y heteropolímeros que crean un ambiente favorable para la biopelícula.

Dentro de los colonizadores primarios destacan las bacterias Gram positivas, que forman enlaces iónicos específicos, también de tipo hidrofóbicos o lectinas; este último es un enlace molecular entre una proteína de la superficie de la bacteria y carbohidratos de la matriz. Como ejemplo de primeros colonizadores típicos tenemos el género *Streptococcus* que se une interactuando con sustratos de las superficies dentarias como restos de albúmina, proteínas ricas en prolina, mucinas o ácido siálico. Otros colonizadores primarios podrían ser lactobacilos y el género *Actinomyces*, con posterior aparición de otras bacterias Gram negativas anaerobias.

A los colonizadores primarios se agregan otros microorganismos en forma de estratos, dándose un fenómeno de co-agregación. El tipo de unión entre los microorganismos es muy amplio destacando el uso de adhesinas, glicoproteínas específicas y lectinas. Además, hay otro tipo de interacciones como el “quorum sensing” que hace referencia a la autoregulación de la expresión genética de los microorganismos que forman la biopelícula en respuesta a la densidad de población. Ejemplos de colonizadores secundarios serían *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella* spp., *Porphyromonas gingivalis*, *Veilonella atypica*, y algunos lactobacilos. El número de especies

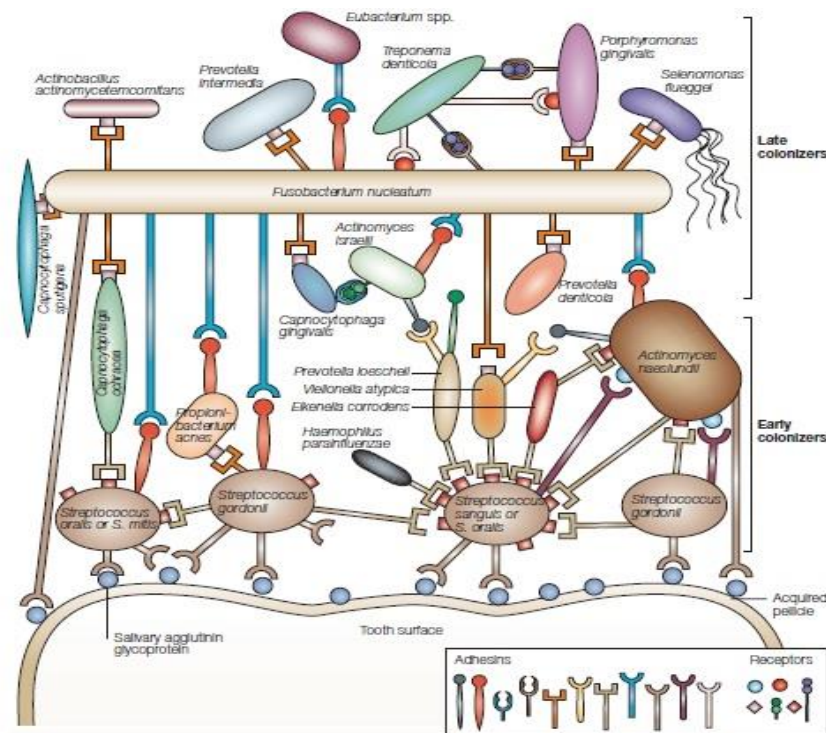


Figura 3 – Esquema del biofilm oral. Tomado de Bakaletz, 2004.



que pueden llegar a estar implicadas en el *biofilm* cariogénico es muy variable en función del individuo y la localización de la lesión. Así pues, la diversidad bacteriana media asciende a unas 177 especies en el caso de la caries de esmalte, 251 en la caries de dentina expuesta al exterior y 201 en la caries de dentina oculta (Abranches *et al.*, 2018). En la figura 3 se muestra un esquema de cómo estaría estructurado el *biofilm* de la cavidad oral.

2.3.2 Morfología de la pieza dentaria

La estructura del diente y su posición en el arco bucal favorece o dificulta el desarrollo del *biofilm*, por tanto es un factor importante en la aparición de la caries dental. Anomalías en la morfología del diente hace que existan puntos y surcos donde se dificulta la higiene bucal. Estos lugares son más propensos a desarrollar caries y hay un mayor crecimiento de bacterias al no eliminarse con el cepillado. Por ello, la disposición espacial de las piezas dentarias en la cavidad oral también determina la aparición de la enfermedad. En las bocas con dientes apiñados o superposición de dientes hay una mayor incidencia de caries ya que es más fácil la formación de la placa bacteriana. También podríamos destacar la estructura y composición del diente, en este factor involucraríamos también otros factores secundarios ya que los cristales de hidroxiapatita, fluoroapatita y fluorhidroxiapatita se modifican con la influencia de factores externos. Las vías de difusión del ácido cuando disminuye el pH favorecen la desmineralización y, en consecuencia, la aparición de la mancha blanca. Esta difusión del ácido se ve dificultada en piezas que poseen más alto potencial de fluoruros. El fluoruro que se disuelve dentro de la placa disminuye la cantidad de ácido que pudiera atravesar la interfase esmalte-*biofilm* (Sánchez-Barriga, 2011).

2.3.3 Cómo influye la dieta

Después de los microorganismos la dieta es el factor más determinante de la enfermedad. La presencia y el tipo de azúcar ingerido favorecen el crecimiento de las bacterias cariogénicas. A su vez, dentro de la dieta son dos los elementos influyentes en la caries dental. Por un lado, los factores relacionados con el alimento en sí: la textura del alimento, la adherencia del producto al diente, la concentración de azúcar y su liberación. Por otra parte, tenemos los aspectos relacionados con el hábito alimenticio: la frecuencia de ingesta, la forma de masticación y el tipo de alimentos consumidos. Típicamente se han considerados como alimentos más cariogénicos



aquellos que poseen más cantidad de azúcares libres o añadidos y aquellos que poseen gran capacidad de unión a las superficies orales. Un ejemplo claro de alimento altamente cariogénico son los pasteles procesados, que poseen elevada tasa de azúcares sencillos, especialmente sacarosa, y componentes glaseados que se adhieren con gran facilidad a los dientes.

No existe una relación directa entre la concentración de azúcar y cariogenicidad, así como tampoco es posible determinar una concentración mínima cariogénica ya que hay más factores del alimento y de la ingesta en sí que determinan este hecho (Van Loveren, 2019). Concretamente, la sacarosa se considera el azúcar más perjudicial, esto se debe a que a partir de este azúcar las bacterias son capaces de sintetizar los polímeros extracelulares que facilitan el crecimiento y adherencia de las bacterias. Este proceso es muy específico de las bacterias cariogénicas y es por esto que se atribuye a la sacarosa un papel crítico en la aparición de la caries. Por otro lado, se ha estudiado que el uso de otros azúcares sustitutos de la sacarosa como el xilitol, lactitol, sorbitol, aspartamo o esteviosa disminuyen significativamente la aparición de caries, incluyéndose el consumo de alimentos azucarados con este tipo de edulcorantes como una estrategia más para combatir la enfermedad (Gupta, 2018).

La composición de la dieta en la infancia es fundamental ya que las carencias nutricionales pueden llevar a la formación de un esmalte deficitario, disfunción de las glándulas salivares por falta de aportación proteica o problemas a nivel de la parte ósea del diente por falta de vitamina A y D. Todo esto se traduce en un diente más expuesto a la acción patógena de la microbiota que constituye el *biofilm* oral (Tungare y Paranjpe, 2019).

2.3.4 El factor tiempo

Como es de esperar la propia presencia de una biopelícula cariogénica no es suficiente para desarrollar la enfermedad, es necesario que esos microorganismos se reproduzcan y sean activos metabólicamente para causar la lesión. Una vez establecida, la composición microbiana de la placa dental permanece relativamente estable a lo largo del tiempo, y esta homeostasis microbiana se mantiene gracias a las interacciones dinámicas de los microorganismos entre ellos y de los microorganismos con el huésped (Simón-Soro y Mira, 2015).



2.4 Justificación del tema

Debido a la alta prevalencia que tiene la enfermedad, es importante el conocimiento de los agentes etiológicos para poder frenarla. Saber cómo se comportan los microorganismos dentro del *biofilm* oral y su interacción con el diente puede ayudar en gran medida a la búsqueda de métodos de profilaxis efectivos y a establecer un tratamiento. La caries dental es un problema de salud muy extendido y que afecta a todos los grupos de edades. Además, cada vez es mayor la ingesta de alimentos que favorecen el crecimiento de bacterias cariogénicas así como la preocupación de la población por el interés estético de la cavidad oral. Como consecuencia, la caries dental es motivo frecuente de consulta al odontólogo por parte de los ciudadanos.

3. OBJETIVOS

Como objetivo principal, en esta revisión se pretende recopilar información actual sobre la enfermedad y describir los factores principales que la causan. Se hará especial enfoque en los microorganismos implicados en la aparición y desarrollo además de exponer posibles métodos de profilaxis y tratamiento una vez instaurada. Dentro de la revisión se han determinado varios objetivos específicos:

- Identificar los microorganismos que componen el *biofilm* oral durante el proceso de caries, así como sus características metabólicas, funciones fisiológicas y factores de virulencia de las principales especies.
- Describir brevemente los actuales métodos para la identificación de los microorganismos cariogénicos.
- Destacar la implicación de la ingesta de azúcares en el desarrollo en la enfermedad.
- Valorar los posibles tratamientos y métodos de profilaxis como uso de fluoruros, otros microorganismos o nanopartículas.



4. METODOLOGÍA

La metodología empleada en esta revisión se basa en la recopilación de información obtenida de diversas fuentes. Dado que es un tema ampliamente estudiado, las fuentes bibliográficas consultadas son muy diversas, la información más general y descriptiva de la enfermedad y su relación con los microorganismos ha sido tomada de libros de texto, tanto en versión digital como en soporte físico. La búsqueda de libros con interés relacionados con el trabajo se ha realizado mediante el catálogo FAMA de la Universidad de Sevilla, la mayoría de libros han sido consultados de la biblioteca de la Facultad de Odontología.

En esta misma búsqueda además, se han encontrado algunos trabajos académicos previos como tesis doctorales.

Posteriormente, se ha realizado una búsqueda más específica y actual del tema a tratar. Buscando artículos en bases de datos científicas, en concreto en las siguientes:

- Pubmed: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
- Google Scholar: <https://scholar.google.es/>
- Scielo: <https://www.scielo.org/es//>

Para ello, se han introducido las palabras clave “dental caries” y “bacteria” como criterio principal. En el buscador de *Google Scholar* la frase clave ha sido “microbiology of dental caries”. Posteriormente, y para acotar resultados se han usado las palabras “etiology”, “biofilm” y “*Streptococcus mutans*”. Por último, se ha realizado una búsqueda específica con el fin de relacionar el papel de cada uno de los grupos de microorganismos utilizando el nombre del género y el término “dental caries”.

Para seleccionar los artículos de interés se establecieron los siguientes criterios de inclusión:

- Se han tomado artículos que describan la relación existente entre los distintos factores etiológicos causantes de la enfermedad.
- Artículos que se centren en las bacterias como causante de la enfermedad y que describan los mecanismos de patogenicidad.



- Preferentemente, se han seleccionado artículos con menos de 10 años y la última edición disponible en el caso de los libros.
- Se examinaron artículos en inglés y en castellano.

Como criterio de exclusión se descartaron trabajos por los siguientes motivos:

- Artículos cuyo tema principal fuesen otras enfermedades de la cavidad oral también causadas por microorganismos.
- Artículos que hablaran de la composición de la microbiota oral en estado de salud.
- Artículos cuyo texto completo no estuviera disponible.
- Artículos que no aportaban resultados concluyentes.

Como la ayuda en la redacción de la revisión y gestión de la bibliografía se ha hecho uso del programa informático Mendeley.



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Principales grupos de microorganismos

5.1.1 *Streptococcus*

El género *Streptococcus* lo constituyen bacterias Gram positivas, con forma de coco que se distribuyen normalmente en cadenas o pares. Destacan por ser fuertes fermentadoras de azúcares, productoras de ácido y la mayoría anaerobias facultativas. Crecen a lo largo de un solo eje y se suelen clasificar por su capacidad hemolítica y por otros sistemas más específicos como el de Lancefield que es una clasificación de tipo serológico en función de la presencia de determinados antígenos de la pared celular (Remington y Turner, 2018). El género se divide en 8 grupos de los cuales los orales se encuentran en 6 de ellos. Son el grupo de microorganismos más extenso implicados en la enfermedad, específicamente en las lesiones del esmalte y dentina. En particular, las comunidades recolectadas a partir de lesiones caries de dentina contenían especies acidogénicas (productoras de ácido) y acidófilas (tolerantes al ácido) (Abranches *et al.*, 2018). Como se ha comentado anteriormente, este género forma parte de los colonizadores primarios de la pieza dental. Esto es debido a que poseen adhesinas específicas, antígeno I/II (Ag I/II) y otras como SpaP, P1, PAc, SspA, SspB que se unen a otras glicoproteínas del huésped como la gp340, presente en el esmalte. Otras adhesinas como GspB y Hsa son glicoproteínas ricas en serina (Srr) que se unen a los glucanos sialilados presentes en la mucina salival humana soluble MG2 / MUC7, un componente de la película de la mucosa (Hannig *et al.*, 2017). Otras estructuras como las fimbrias de *Streptococcus sanguinis* se han relacionado con la adherencia mediante la interacción con la α -amilasa salivar.

S. sanguinis tiene una gran capacidad de sintetizar glucanos extracelulares a partir de sacarosa, estos glucanos están compuestos principalmente de glucosa con uniones de tipo α -1,6 y α -1,3 y constituyen el polímero principal de la biopelícula. Uno de los genes claves de la bacteria para la formación de estos glucanos, y por tanto la adherencia del *biofilm*, es el gen *gtfP*. Sin embargo, se ha demostrado que la presencia de *S. sanguinis* promueve al mantenimiento de una biopelícula oral sana, ya que compete con otras especies con más potencial cariogénico como *Streptococcus mutans* (Zhu *et al.*, 2018).



Aunque no está presente en todas las ocasiones, *S. mutans* es una de las bacterias más comunes implicadas en la caries dental y es un factor de impacto significativo en la mayoría de los casos. Es por esta razón que clásicamente se le ha asignado el papel de agente etiológico de la caries dental, aunque hoy en día sabemos que no es el único microorganismo implicado. Esta bacteria posee varios factores de virulencia que la hacen especialmente interesante entre los cuales destacan:

- *Streptococcus mutans* es una bacteria altamente acidogénica, en un medio con buena disposición de azúcares fermentables es capaz de disminuir el pH de la boca de 7 a 4,2 en aproximadamente 24 horas (Ojeda-Garcés *et al.*, 2013). Esta elevada producción de ácidos se debe a que es capaz de metabolizar rápidamente una variedad elevada de azúcares por la vía fermentativa. Es deficitaria en cadenas respiratorias por lo que utilizan sistemas alternativos de asimilación de azúcares, como los sistemas basados en fosfotransferasa dependiente de fosfoenolpiruvato, del cual se obtiene ácido láctico como metabolito final. Para evitar el estrés osmótico causado por el aumento de protones en la célula, cuentan con bombas que regulan el pH citoplasmático. Estas bombas son las F-adenosina trifosfatasa (F-ATPasa), que en el caso particular del género *Streptococcus* es la $F_0 F_1$ -ATPasa encargada de alcalinizar el pH citoplasmático y de establecer una reserva de protones para una variedad de sistemas de transporte secundario (Abachi *et al.*, 2016). En la figura 4 se observa cuáles son las principales vías por las cuales *S. mutans* metaboliza la glucosa.

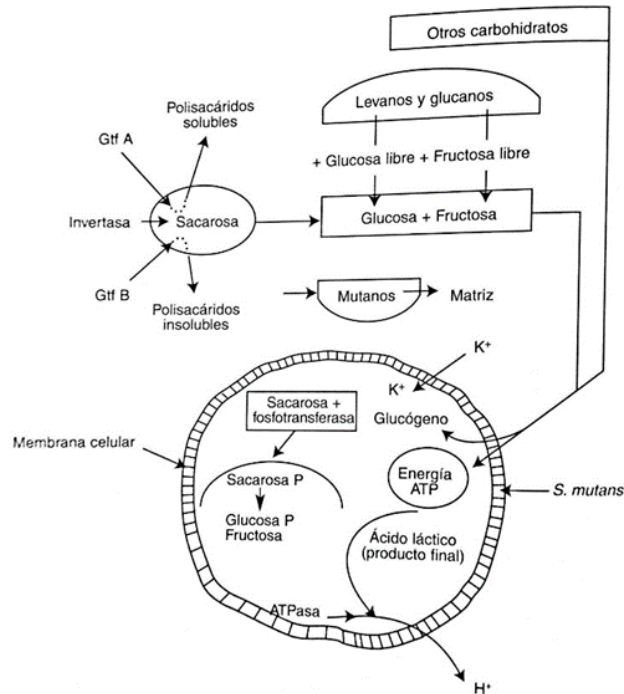


Figura 4 - Utilización de azúcares por *S. mutans*. Tomado de Negroni, 2009.

- Además de acidogénica es acidófila, es decir, crece mejor en medio ácido debido a que desarrolla unos mecanismos de tolerancia al ácido (ATR). Estos mecanismos son constitutivos de la bacteria pero también hay algunos inducidos por la sobreexpresión de ciertos genes cuando la bacteria es sometida a un ambiente ácido. Por ejemplo, a pH ácido *S. mutans* aumenta su tasa de captación de glucosa y del proceso de glucólisis, ya que hay un aumento de genes implicados en el metabolismo primario (Matsui y Cvitkovitch, 2010).
- La capacidad para formar biopelículas de *S. mutans*, es muy similar a la de *S. sanguinis* y le concede especial capacidad para producir caries. Posee dos grupos de mecanismos para producir glucanos extracelulares, uno dependiente de la sacarosa y otro independiente. Dentro del grupo dependiente de la sacarosa, las glucosiltransferasas (GTFs) desempeñan un papel crítico en el desarrollo virulento de la placa dental y son responsables de la formación de glucanos a partir de la biotransformación de la sacarosa. Los glucanos sintetizados brindan la posibilidad de adhesión bacteriana al esmalte dental y



microorganismos entre sí. Algunos de los glucanos sintetizados son insolubles dotando a la biopelícula un sitio sólido de anclaje y protección extra frente a agentes externos, incluidos antibacterianos (Bowen y Koo, 2011). Otras moléculas importantes en la adhesión de la bacteria al diente son los glucanos de unión a proteínas (GBPs) que se encargan de mediar la unión de las propias bacterias a glucoproteínas de la matriz previamente formadas. Un esquema de estos modelos de adherencia se muestra en la figura 5.

Los mecanismos independientes de la glucosa no son relevantes en la virulencia de la bacteria pero sí ayudan a otros microorganismo a adherirse al *biofilm* (Krzyściak *et al.*, 2014).

- Otro tipo de uniones como la mediada por la proteína C de la superficie celular se asocia a la virulencia del organismo para el desarrollo de caries dental y participa en la adherencia bacteriana a los dientes a través de la interacción con la película salival. Por último, existen algunas proteínas de unión al colágeno, presente en algunas cepas de *S. mutans* que favorecen su unión a este componente orgánico que se encuentra en elevada proporción en la dentina (Matsumoto-Nakano, 2018).

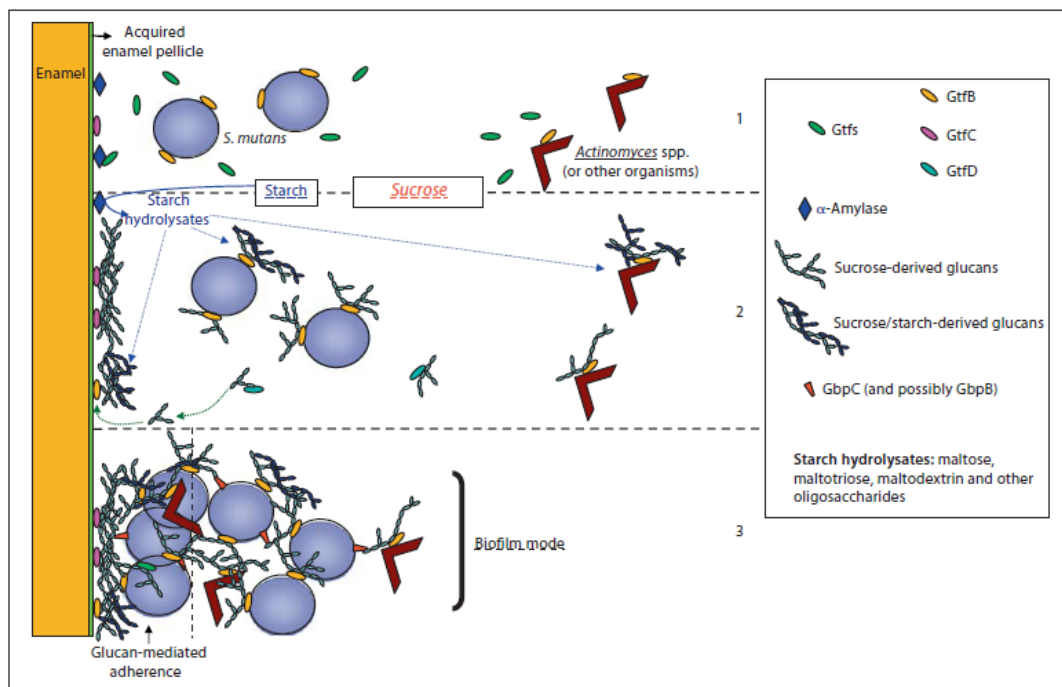


Figura 5 - Modelo de adherencia bacteriana mediada por Gtfs. Tomado de Bowen y Koo, 2011.



Streptococcus sobrinus también ha sido aislada frecuentemente en las muestras de caries dental, en algunas de ellas ha sido aislada en ausencia de *S. mutans* pero se puede decir que, por norma general, actúan sinérgicamente. Se ha demostrado que la enfermedad aparece con mayor frecuencia en personas que están colonizadas por ambas bacterias (Oda *et al.*, 2015). El papel de *S. sobrinus* se suma a los factores de virulencia de *S. mutans* apareciendo en situaciones de caries más severa, ya que una vez instaurada la lesión cariosa, esta bacteria contribuye a una descomposición de la superficie lisa de la pieza dental (Conrads *et al.*, 2014).

La presencia de otros estreptococos como *Streptococcus gordonii* o *Streptococcus salivaris* disminuye el potencial cariogénico de la biopelícula oral ya que producen compuestos básicos que neutralizan la disminución de pH que causa la disolución de los minerales de hidroxiapatita de las piezas dentarias (Abranches *et al.*, 2018). Además, estas dos últimas especies no aparecen en niveles significativamente superiores en lesiones cariosas, este hecho sugiere que se encuentran como comensales en bocas sanas. Se ha demostrado que existe una disminución en la variedad de microorganismos que colonizan los ambientes locales en presencia de caries. Podría decirse que en la biopelícula de una boca sana existen mayor número de especies que en una boca enferma, donde destaca el crecimiento de algunas especies en concreto, desplazando a otras, aunque no existe un único bloque de bacterias cariogénicas comunes para todas las lesiones cariosas (Gross *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2016).

5.1.2 *Lactobacillus*

Los lactobacilos son bacterias Gram positivas, que se encuentran en forma de bacilos curvos, rectos, e incluso como cocobacilos. Se caracterizan por ser aero-tolerantes o anaeróbicos y son estrictamente fermentadores, lo que de manera natural les confiere una resistencia a los ambientes ácidos normalmente letales para otras bacterias. Son bacterias generalmente inmóviles y no forman esporas.

Carecen de citocromo y no realizan la cadena respiratoria, por este motivo, fermentan la glucosa y otros azúcares (hexosas) obteniendo ácido láctico como único producto, mediante un proceso que se llama homo-fermentación. También realizan una hetero-fermentación donde lo que se obtiene es una mezcla de varios ácidos como el acético, propiónico o succínico, incluyendo entre estos también el ácido láctico. Las exigencias nutricionales de este género son bastante complejas ya que requieren un medio rico en hidratos de carbono, aminoácidos, nucleótidos e incluso vitaminas (Hammes y Vogel, 1995).



Los lactobacilos orales se adquieren en el momento del parto, pero se desprenden en ausencia de caries, por lo cual, en niños se asocia directamente la presencia de estas bacterias a la caries dental. De las más de 150 especies de *Lactobacillus* existentes, solo unas cuantas han sido identificadas en pacientes que poseían la enfermedad, lo que lleva a pensar que existe una especificidad de nicho. Es necesaria la presencia de una fuente de carbohidratos abundante, un pH bajo, un entorno anaeróbico y una barrera física para el asentamiento de estas especies. La matriz formada previamente por los estreptococos es un ambiente idóneo para el asentamiento de este género (Caufield *et al.*, 2015). La figura 6 muestra como es la colonización de *Lactobacillus* y su relación con las especies estreptocócicas.

Su papel en la enfermedad es debido al ácido que producen procedente del metabolismo y a su capacidad natural para sobrevivir en los ambientes ácidos. Sin embargo, no se las considera como bacterias iniciadoras de la caries ya que no tienen gran afinidad por la superficie dental y su presencia necesita de una retención mecánica. Algunas especies son capaces de fermentar la sacarosa, pero no es una característica común ni lo hacen en gran cantidad, disminuyendo así la capacidad cariogénica del género. No obstante, la presencia de proteasas específicas como las colagenasas hacen que una vez iniciada la lesión, se produzca un avance, ya que además de la desmineralización, nos encontramos con la destrucción de tejido blando constitutivo de la unión diente – encía y de la propia encía (Caufield *et al.*, 2015).

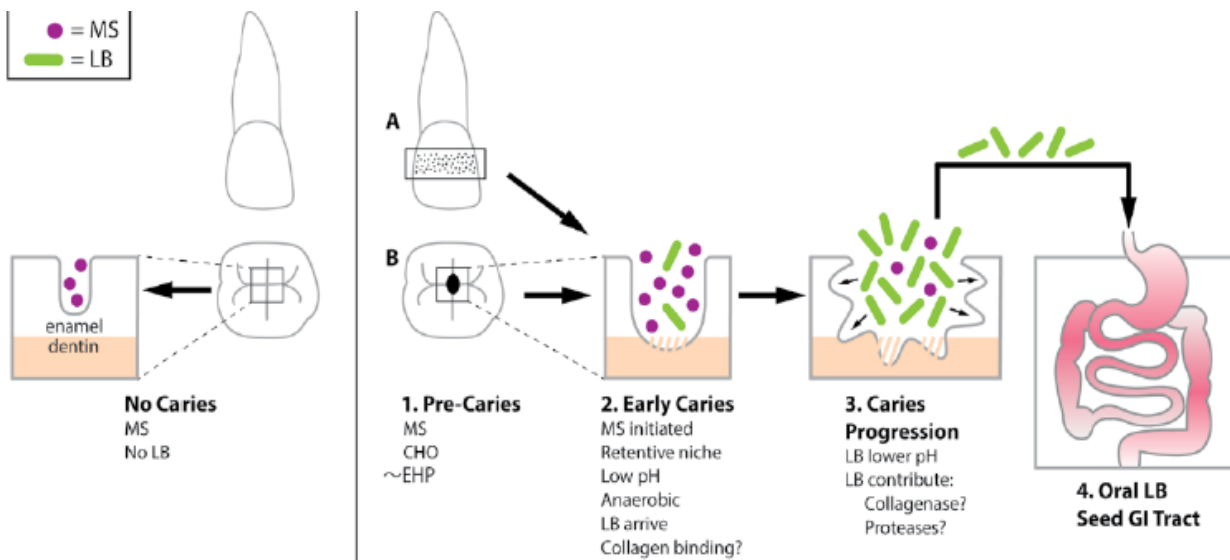


Figura 6 - Papel de *Lactobacillus* en caries dental. Tomado de Caufield *et al.*, 2015.



5.1.3 *Actinomyces*

Son bacilos filamentosos, anaerobios y anaerobios facultativos, Gram positivos, ácido alcohol resistente, inmóviles y no esporulados. Pueden poseer fibrillas extracelulares. Forman parte de la microbiota oral residente y, aunque se han aislado en la mayoría de lesiones cariosas, por sus características se asocia fundamentalmente a la caries de raíz. Sus factores de cariogenicidad pueden ser resumidos de la siguiente manera (Negróni, 2009; Brañez Reyes *et al.*, 2018):

- Forman ácidos distintos del láctico como butírico y propiónico, que favorecen la disminución del pH del medio, aunque no son acidófilos.
- Producen polisacáridos intracelulares y extracelulares a partir de la sacarosa, que junto con algunas enzimas previamente expulsadas al medio, forman mutanos, dextranos y levanos, siendo los mutanos compuestos que tienen gran función adhesiva y los otros dos usados como reserva de azúcares.
- Poseen fimbrias que les permiten adherirse y agregarse con otras especies. Estas fimbrias tienen afinidad por proteínas ricas en prolina y estaterina (proteína salivar que previene la precipitación del fosfato cálcico), así como por la superficie del esmalte dental a través de un mecanismo adhesina-receptor.

Este género, a diferencia de los dos géneros anteriores, tiene una expresión génica similar en dientes sanos y en dientes con lesión cariosa. Esto indica que habita de manera comensal junto con la microbiota oral, pero puede ser cariogénica debido a los mecanismos de adaptación que posee para sobrevivir en medio ácido y metabolizar más eficientemente los azúcares, mejorando su gasto energético (Dame-Teixeira *et al.*, 2016).

Se ha establecido una relación directa entre la asociación de *Actinomyces viscosus* y *Candida albicans* como patógenos cuando ambas están presentes en el *biofilm*. En presencia de ambas se demostró que hay mayor formación de biopelícula, disminuye más el pH, hay mayor disolución de cristal de hidroxapatita, formación de más polímero extracelular insoluble y mayor fuerza de adhesión de las bacterias al diente (Deng *et al.*, 2019).

En la tabla 1 se observa una comparación entre las propiedades cariogénicas de las principales especies causantes.



Tabla 1 - Principales características de algunas bacterias cariogénica. Traducida de Lamont et al., 2014.

Bacteria	Propiedades cariogénicas				
	Transporte de azúcares (velocidad)	Producción de ácido (velocidad)	Tolerancia al ácido	Producción de polímeros	
				Extracelular	Intracelular
<i>Streptococcus mutans</i> ^a	Múltiples sistemas (muy rápido)	<pH 4.0 (muy rápido)	Alto Crecimiento a pH 5.5 y por debajo	Polisacáridos solubles e insolubles (glucano y fructano)	Si ^b
<i>Lactobacillus</i> ^c	Sistemas desconocidos (rápido)	<pH 4.0 (rápido)	Muy alto Crecimiento a pH 5.0	Heteropolisacárido Glucano	No
<i>Actinomyces</i> sp. ^d	Sistemas desconocidos (medio)	pH 4.5-5.0 (medio)	Media	Heteropolisacárido Fructano	Si
<i>Streptococcus sanguinis</i>	Múltiples sistemas (medio)	pH 4.5-4.9 (medio)	Pobre	Polisacáridos solubles e insolubles	Si

^a*Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*

^b*Streptococcus sobrinus* no sintetiza mucho polisacárido intracelular

^cPoca evidencia sobre las especies de *Lactobacillus*

^dPoca evidencia sobre las especies de *Actinomyces*.

5.1.4 *Bifidobacterium*

Es un género bacteriano que comprende bacterias Gram positivas, anaerobias, inmóviles, y frecuentemente ramificadas. Son conocidas en el ámbito de la salud por ser bacterias saprófitas del tracto gastrointestinal sano de humanos. Además, su amplio uso como probióticos intestinales se debe a que su presencia ayuda a un mejor equilibrio y regulación entre la respuesta inflamatoria y la respuesta alérgica (Xaus, 2004).

Son caracterizadas como patógenos comensales en la caries dental, normalmente se asocian a las caries en la infancia y también en adultos, aunque en menor medida (Ventura et al., 2009). Su potencial cariogénico se debe principalmente a la capacidad bacteriana de asociación con otras especies del mismo o diferente género, ya que se adhieren pobremente al diente y forman *biofilm*. La combinación de *Bifidobacterium* con *S. mutans* y *S. sobrinus* ha demostrado causar mayor pérdida de mineral en la superficie dental (Valdez et al., 2016).



Este género ha mostrado que en presencia de rafinosa es capaz de disminuir más el pH que *S. mutans* por sí sólo, siendo la asociación de ambas más virulenta que cada una individualmente. Así se refuerza la teoría ecológica de la etiopatogenia de la caries dental, que sostiene que no solo un microorganismo causa la enfermedad, sino la asociación de algunos de ellos y su interacción (De Matos *et al.*, 2017).

5.1.5 *Prevotella*

El género *Prevotella* está íntimamente relacionado con el género *Bacteroides* y son bacterias Gram negativas que adoptan forma de bacilos cortos mayoritariamente aunque también se distinguen células largas, no forman esporas y son inmóviles. Se clasifican en función de su resistencia o no a la bilis, su capacidad o no de sintetizar melanina y según su fermentación de azúcares. Son bacterias anaerobias estrictas y tienen requerimientos nutricionales específicos por lo que para su cultivo debe suplementarse el medio con hemina y vitamina K.

En la cavidad oral encontramos las especies: *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella loescheii*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella denticola* y *Prevotella corporis* (Zhou y Yuqing, 2015).

El *biofilm* cariógeno madura una vez establecido. *Prevotella* está considerada como una de las bacterias constituyentes del *biofilm* tardío. A medida que pasa el tiempo, hay una disminución de bacterias del grupo Gram positivo, que deja paso a un crecimiento de bacilos Gram negativos. Este es el motivo por el cual se han aislado mayoritariamente en lesiones profundas, en entorno anaeróbico, donde se pone de manifiesto su alta capacidad proteolítica (Praveen *et al.*, 2018).

5.1.6 *Veillonella*

Es un género compuesto por cocos Gram negativos anaeróbicos, caracterizadas por su habilidad para fermentar los ácidos láctico y succínico. El ácido láctico procede principalmente del metabolismo de otras especies como *S. mutans* lo que supone una acción sinérgica directa entre ambas especies. La alimentación cruzada entre estas dos especies aumenta notablemente la virulencia del *biofilm*.



Además, *Veillonella* favorece el crecimiento de las bacterias productoras de ácido mediante la reducción de nitratos, ya que una baja concentración de nitratos puede ser letal para algunas bacterias cariogénica (Simón-Soro y Mira, 2015).

Las cepas aisladas de las lesiones cariosas activas muestran mayor expresión génica de proteínas transportadoras de membrana, entre ellas hay un aumento significativo de la α y β L-(+)-tartrato deshidratasa. La elevación de la producción de histidina intracelular proporciona capacidad de amortiguación y, por lo tanto, ayuda a la supervivencia en el ambiente ácido. Por último, como medida adaptativa hay un incremento de sistemas de captación de potasio que también ayuda a la supervivencia celular. Estos mecanismos de regulación de pH por parte de un grupo minoritario en el *biofilm* proporcionan un punto de contrapeso en el balance de factores que intervienen en la enfermedad (Matsui y Cvitkovitch, 2010).

Este grupo posee una característica común con el género *Bifidobacterium*, en muestras cariosas se ha detectado un aumento de la expresión de sus colagenasas, lo que nos lleva a pensar que intervienen destruyendo tejido blando de las lesiones cariosas y su función destructora del esmalte es secundaria (Damé-Teixeira *et al.*, 2018).

5.1.7 *Fusobacterium*

Conforman este género bacterias Gram negativas, anaerobias obligadas, aunque algunas especies son capaces de tolerar una baja concentración de oxígeno. Su nombre se debe a que adoptan forma de huso, pero excepcionalmente podemos encontrarlas como bacilos largos o formas más esféricas. No forman esporas y las especies que se han identificado en la cavidad oral con mayor frecuencia son: *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium necrophorum* y *Fusobacterium varium*.

Su particular morfología celular le confiere un papel clave en la estructura tridimensional del *biofilm* siendo una de las especies que más ayudan en la co-agregación celular. La gran superficie celular de *Fusobacterium* sirve de anclaje para bacterias que colonizan tardíamente la pieza dentaria, así pues, este género tiene un papel coordinador en el conjunto bacteriano. Sin embargo, la mayoría de estudios demuestran que en los pacientes afectados por la enfermedad hay una disminución significativa del recuento de bacterias del género *Fusobacterium* (Jiang *et al.*, 2016; Belstrøm *et al.*, 2017).



En la figura 7 se pueden observar células de *F. nucleatum* al microscopio óptico. La figura 8 muestra una imagen al microscopio electrónico de barrido de *F. nucleatum*.



Figura 7 – Imagen de *Fusobacterium nucleatum* al microscopio óptico usando tinción de Gram tomado de Zhou y Yuqing, 2015

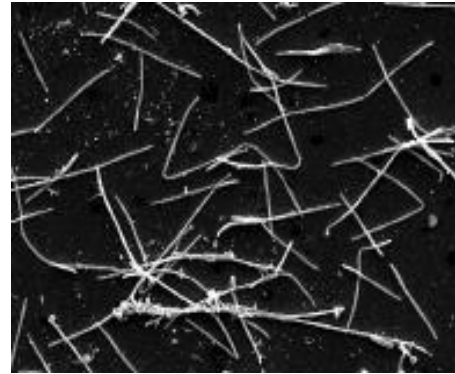


Figura 8 – Imagen de *Fusobacterium nucleatum* al microscopio electrónico de barrido tomado de Zhou y Yuqing, 2015

5.1.8 Otros microorganismos

Como ya se ha comentado a lo largo de toda la revisión, el número y tipo de microorganismos presentes en el *biofilm* es muy amplio, complejo y bastante variable, por tanto, la cantidad de géneros y especies bacterianas es muy alto. Por ejemplo, otros autores señalan a *Propionibacterium acidifaciens* como la única bacteria que se presenta en individuos cariosos en una proporción bastante significativa respecto a individuos sanos (Frese y Wolff, 2013).

No sólo bacterias han sido identificadas en el *biofilm* de los individuos que presentan lesiones cariosas, también otro tipo de microorganismos. *Candida albicans* por ejemplo, ha sido hallada de manera constante en muestras de caries. Esta especie fúngica es la mayor causante de enfermedades infecciosas de la cavidad oral, su capacidad de adherencia al colágeno y al esmalte junto con su capacidad de disolución de los cristales de hidroxiapatita son sus mecanismos de patogenicidad más estudiados. Puede destacarse también su capacidad de favorecer la formación de *biofilm* de otras especies como *Actinomyces* (Deng *et al.*, 2019). Otros estudios, hacen referencia a la capacidad de estimular el crecimiento de *S. mutans* mediante la



comunicación *quorum sensing* aunque sorprendentemente en co-cultivo disminuye la producción de glucanos extracelulares (Conrads *et al.*, 2014). Su contribución a la acidificación del ambiente favorece la supervivencia de *Lactobacillus* (Gong *et al.*, 2019).

La presencia de virus no ha sido ampliamente estudiada aunque no se descarta su presencia.

5.2 Métodos de identificación bacteriana y limitaciones

Uno de los problemas principales para determinar la etiopatogenia de la caries dental es el cultivo e identificación de los microorganismos formadores del *biofilm*. El proceso para ello comienza siempre con la selección de pacientes enfermos, que se realiza mediante un análisis diagnóstico de la caries. El método más extendido en el diagnóstico de caries es el Sistema Internacional para la Identificación y Valoración de Caries dental (ICDAS II) (Pitts *et al.*, 2014). Una vez caracterizadas las lesiones cariosas es de gran importancia la toma de muestra. Dentro de los estudios revisados, se han observado diferentes tipos de muestra para identificar los microorganismos cariogénicos.

La saliva, en primer lugar, ha sido la muestra que clásicamente se ha utilizado en la microbiología oral. Además, su fácil acceso y el hecho de que no es una técnica invasiva la han colocado durante mucho tiempo como referencia. No obstante, en el caso de la caries, se considera que la muestra de saliva es menos representativa en comparación con otras. Se debe principalmente a que la saliva está en contacto con otros nichos de la boca, como por ejemplo la lengua, los labios o el paladar. Otra zona bastante usada en la bibliografía para la toma de muestra ha sido la superficie de la pieza dental, que se asemeja más a la microbiota presente en las lesiones cariosas, existiendo también cierta diferencia entre ambas. Por último, en la actualidad se recomienda tomar la muestra directamente de la lesión cariosa ya que se ha demostrado que, en un mismo individuo, existen diferencias entre la composición bacteriana de una muestra de saliva, superficie dental y lesión cariosa (García-Castro *et al.*, 2017).

Otro aspecto fundamental en el análisis microbiológico del *biofilm* de las lesiones cariosas es el método de identificación. El cultivo de los microorganismos es una de las bases de la microbiología clínica, por ello, para el estudio de los microorganismos cariogénicos se han empleado algunos medios de cultivo selectivos que simulan el ambiente oral. El agar *Mitis Salivarius* se usa para el crecimiento de las especies de *Streptococcus* y permite su diferenciación



de otros géneros cercanos como *Enterococcus*. Sin embargo, el problema de la caries dental se debe abordar entendiendo el *biofilm* oral como una comunidad polimicrobiana compleja y el uso de medios de cultivo específicos limita en gran medida este hecho. Además, la mayoría de bacterias de la cavidad oral se consideran no cultivables (Ojeda-Garcés *et al.*, 2013).

El uso de métodos no dependientes de cultivo da una aproximación más real de la composición del *biofilm*, esto ha conducido al uso de métodos basados en la genética. La amplificación mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) del ADN bacteriano es una de las técnicas usadas, para ello se toma una secuencia bacteriana y se amplifica. Esta amplificación se realiza copiando la secuencia repetidas veces para su posterior comparación en una base de datos e identificación.

Aun siendo tan precisa, esta técnica presenta una limitación importante y es que la amplificación del genoma bacteriano no diferencia entre células vivas y muertas. En las lesiones cariosas están presentes los agentes causales y además microorganismos procedentes de otros nichos orales, así como acúmulos de células que ya no son viables. Además, al haber una cantidad tan elevada de bacterias la estimación de cuáles son las realmente activas en la enfermedad es muy variable (García-Castro *et al.*, 2017).

Las últimas técnicas apuntan al uso de amplificación mediante pirosecuenciación del ARN ribosómico 16S, que es un componente altamente conservado de las células bacterianas que permite establecer relaciones filogenéticas de las especies, su correcta identificación y clasificación (McLean, 2014). Esta secuencia de ARNr 16S se puede considerar un indicador apropiado de los microorganismos activos dado que se sabe que la cantidad de material de ARNr en células bacterianas está relacionada con su grado de actividad metabólica (Guillen-Navarro *et al.*, 2014). La tabla 2 resume cuáles son los posibles errores a la hora de establecer los agentes causantes de caries dental.



Tabla 2 – Traducido de Banas y Drake, 2018

Obstáculos para determinar la etiología bacteriana de la caries dental
<p>Posibles errores</p> <p>1. Tipo de muestreo Saliva en lugar de placa dental. Tomar muestra de esmalte intacto en vez de lesiones cariosas. La microbiología de los sitios cariados puede variar considerablemente en pequeñas distancias.</p> <p>2. Susceptibilidad del sustrato Los diferentes sitios en una misma pieza dentaria puede mostrar diferente susceptibilidad ante una determinada composición bacteriana.</p> <p>3. Proceso de caries La microbiología de la caries evoluciona a medida que progresa la lesión.</p> <p>4. Factor genético La composición salival y los constituyentes pueden elevar o disminuir el riesgo de caries.</p> <p>5. Determinación del microbioma cariogénico Los métodos tradicionales no consideran la caries como una enfermedad ecológica, sino enfocados en una sola especie. Los resultados de la secuenciación de siguiente generación pueden diferir de un laboratorio a otro analizando la misma muestra. La secuenciación basada en el gen 16S está poco estudiada para las especies estreptocócicas orales.</p> <p>6. Significado biológico Hay poca evidencia del significado ecológico de cada una de las especies en la placa.</p> <p>7. Incidencia La base microbiana de la caries ocasional, puede diferir respecto a la caries crónica.</p>

5.3 Profilaxis de la enfermedad y posibles tratamientos

La evidencia nos muestra que la caries dental es un problema de salud mayoritariamente prevenible. Esto ha llevado a desarrollar diferentes métodos de prevención de caries. Los métodos más clásicos se centran en el relleno de las fosas dentales, que son quizás el nicho más propenso a desarrollar caries. Se usan diferentes materiales que se fijan de manera permanente a la pieza dentaria, evitando la adhesión de las bacterias. Otras estrategias están basadas en la eliminación mecánica del *biofilm* mediante el cepillado, para ello una buena educación dental es clave si se quiere evitar la enfermedad. Impedir la disminución del pH para evitar el punto crítico es de fundamental importancia en el control de la caries, para ello, se recomienda realizar



una limpieza tras las ingestas principales de alimentos, especialmente las que poseen cantidades significativas de azúcares fermentables. También se recomienda el uso de dispositivos de limpieza auxiliares (como hilo interdental, cepillos interproximales...) para el mejor acceso a zonas restringidas y más susceptibles de desarrollar una lesión cariosa.

La profilaxis de la caries puede abordarse desde diferentes ámbitos, uno de los fundamentales y más ampliamente descritos es el uso de fluoruros. Los fluoruros ayudan a la remineralización de las piezas dentarias y contrarrestan la acción de los ácidos. La principal fuente de ingesta de flúor es habitualmente el agua por lo que la fluoración del agua de consumo sigue siendo una importante medida preventiva colectiva si hay una prevalencia alta de caries dental. No obstante, el contenido en flúor del agua mineral es variable y no está especificado en el etiquetado de todas las aguas, siendo 0,7mg/L la concentración óptima en el agua de consumo como medida preventiva de la caries (Maraver *et al.*, 2015).

El aporte de flúor tópico mediante el uso de pastas dentífricas fluoradas ayuda como medida de profilaxis frente al uso de pastas no fluoradas, sin embargo no existe una evidencia clara de la concentración óptima. Hay una relación lineal entre la concentración del fluoruros en la pasta y la disminución en la prevalencia de caries, por lo que se recomienda la elección de pastas en una concentración equilibrada y evitando el riesgo del fluorosis (anomalía en el esmalte causada por exceso de flúor) (Walsh *et al.*, 2011).

Otras medidas sin embargo, se basan en el uso de microorganismos que compiten con los patógenos evitando así su crecimiento, esto microorganismos probióticos son “Microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud en el huésped”. Ejemplo de bacterias probióticas usadas en la prevención de caries son: *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus paracasei* que han demostrado disminuir la incidencia de caries en niños y adolescentes. Diferentes estudios además, han ensayado combinaciones de dos o más bacterias aisladas frecuentemente en bocas sanas. Estas bacterias se administran como gomas de mascar o en forma de comprimidos, que liberan las bacterias viables en la boca (Zaura y Twetman, 2019).

En la figura 9 se observa cómo influye la presencia de las bacterias probióticas sobre las patógenas. Básicamente la colonización de los nichos orales impide el asentamiento de las patógenas ya que hay una competencia por los sitios de adhesión y por los nutrientes del medio, esto hace que el crecimiento de las patógenas se vea dificultado. Además, colateralmente, se



produce una mejora en la respuesta del sistema inmunológico que se traduce en una disminución de la inflamación.

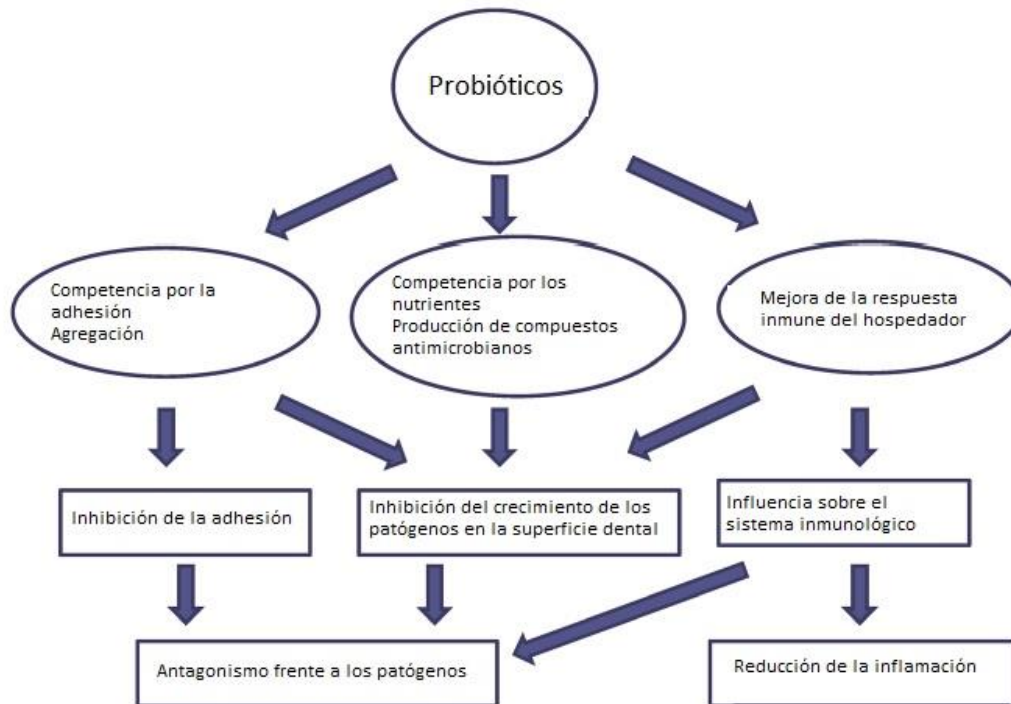


Figura 9 – Efectos de los probióticos sobre la salud oral. Tomado de Lin et al., 2018.

En esta misma línea, varios autores han propuesto el estudio de las interacciones existentes entre microorganismos con el fin de modificarlas o anularlas. La identificación de esta diana terapéutica es consecuencia del entendimiento de la caries dental como enfermedad ecológica, ya que no se basa en eliminar una única especie bacteriana. No obstante, aún hay poca evidencia sobre la interacción entre las especies microbiana y cómo bloquear dichas interacciones (Deng et al., 2019).

El uso de nanomateriales es cada vez más corriente en el tratamiento de la caries dental. Su aplicación no se centra en un único fin, pues podemos encontrarlos en diferentes estrategias



terapéuticas. El concepto de técnicas “mínimamente invasivas” está en la primera línea de desarrollo de terapias odontológicas, por esto la tecnología de los nanopartículas ha tomado un lugar de referencia en el tratamiento de caries. La primera estrategia usada ha sido incorporar nanopartículas con principios activos antibacterianos inorgánicos en compuestos de resina y agentes para reducir la biopelícula de microorganismos que tengan contacto directo con esta resina. Estas resinas, además de sellar el hueco producido por la pérdida de mineral óseo, previene la posterior colonización de bacterias patógenas. Por otro lado, se han usado nanopartículas para reducir la desmineralización y lograr la remineralización (Angel Villegas *et al.*, 2019; Song y Ge, 2019).

6. CONCLUSIONES

De esta revisión bibliográfica se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- La caries dental es un problema ampliamente extendido en la población mundial, que afecta a todas las edades y con una alta prevalencia a nivel mundial. Esta causada por la interacción de diversos factores, jugando los microorganismos un papel clave en la aparición y desenlace de la enfermedad.
- La ingesta de azúcares fermentables por parte de las bacterias aumenta notablemente la prevalencia, entre estos azúcares fermentables la sacarosa es el más importante relacionado con la incidencia de caries.
- El conjunto de bacterias presentes en las lesiones de caries es casi exclusivo de cada individuo, con la ausencia de un bloque común de varias especies o bacterias que se aíslan en la totalidad de las muestras.
- El género *Streptococcus* es el más estudiado en su relación con la enfermedad, su capacidad de fijación a la superficie del esmalte así como su metabolismo fermentativo lo hacen especialmente cariogénico.
- Todos los géneros descritos en este trabajo han sido identificados como comensales, que en situaciones de desequilibrio, actúan como patógenos.



- Es fundamental el estudio de los mecanismos de patogenicidad, así como la identificación de los genes que más se expresan en las cepas virulentas para el desarrollo de terapias efectivas.
- Existen interacciones entre las bacterias que les confieren beneficios metabólicos y protección frente al sistema inmunitario.
- La identificación bacteriana del *biofilm* cariogénico ha tenido grandes limitaciones, en la actualidad se conocen métodos de última generación basados en la genética y no meramente en aspectos microbiológicos.
- Hasta ahora, la eliminación mecánica de los azúcares presentes tras la ingesta de alimentos y de microorganismos con el cepillado es la principal medida profiláctica, pero puede verse reforzada con otras terapias preventivas en caso de encontrarnos ante personas predispuestas a sufrir a enfermedad.



7. BIBLIOGRAFÍA

Abachi S, Lee S, Rupasinghe HPV. Molecular Mechanisms of Inhibition of *Streptococcus* Species by Phytochemicals. 2016. doi:10.3390/molecules21020215.

Abranches J, Zeng L, Kajfasz JK, Palmer SR, Chakraborty B, Wen ZT, *et al.* Biology of Oral Streptococci. *Microbiol Spectr* 2018;6. doi:10.1128/microbiolspec.GPP3-0042-2018.

Angel Villegas N, Silvero Compagnucci MJ, Sainz Ajá M, Rocca DM, Becerra MC, Fabián Molina G, *et al.* Novel Antibacterial Resin-Based Filling Material Containing Nanoparticles for the Potential One-Step Treatment of Caries. *J Healthc Eng* 2019;2019:1-8. doi:10.1155/2019/6367919.

Bakaletz LO. Developing animal models for polymicrobial diseases. *Nat Rev Microbiol* 2004;2:552-68. doi:10.1038/nrmicro928.

Banas JA, Drake DR. Are the mutans streptococci still considered relevant to understanding the microbial etiology of dental caries? *BMC Oral Health* 2018;18:1-8. doi:10.1186/s12903-018-0595-2.

Belstrøm D, Holmstrup P, Fiehn NE, Kirkby N, Kokaras A, Paster BJ, *et al.* Salivary microbiota in individuals with different levels of caries experience. *J Oral Microbiol* 2017;9:1-8. doi:10.1080/20002297.2016.1270614.

Bowen WH, Koo H. Biology of *streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: Role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries Res* 2011;45:69-86. doi:10.1159/000324598.

Brañez Reyes K, Ramos-Perfecto D, Castro Luna A, Piscoche Botello C, Dávila Paredes D, Ruiz Macedo JC. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*, bacterias iniciadoras en la formación de biopelícula dental. *Odontol Sanmarquina* 2018;21:21. doi:10.15381/os.v21i1.14428.

Caufield PW, Schön CN, Saraithong P, Li Y, Argimón S. Oral Lactobacilli and Dental Caries: A Model for Niche Adaptation in Humans. *J Dent Res* 2015;94:110S-118S.



doi:10.1177/0022034515576052.

Conrads G, de Soet JJ, Song L, Henne K, Sztajer H, Wagner-Döbler I, *et al.* Comparing the cariogenic species *Streptococcus sobrinus* and *S. mutans* on whole genome level. *J Oral Microbiol* 2014;6:26189. doi:10.3402/jom.v6.26189.

Dame-Teixeira N, Parolo CCF, Maltz M, Tugnait A, Devine D, Do T. *Actinomyces spp.* gene expression in root caries lesions. *J Oral Microbiol* 2016;8. doi:10.3402/jom.v8.32383.

Damé-Teixeira N, Parolo CCF, Maltz M, Rup AG, Devine DA, Do T. Gene expression of bacterial collagenolytic proteases in root caries. *J Oral Microbiol* 2018;10. doi:10.1080/20002297.2018.1424475.

De Matos BM, Brighenti FL, Do T, Beighton D, Koga-Ito CY. Acidogenicity of dual-species biofilms of bifidobacteria and *Streptococcus mutans*. *Clin Oral Investig* 2017;21:1769-76. doi:10.1007/s00784-016-1958-1.

Deng L, Li W, He Y, Wu J, Ren B, Zou L. Cross-kingdom interaction of *Candida albicans* and *Actinomyces viscosus* elevated cariogenic virulence. *Arch Oral Biol* 2019;100:106-12. doi:10.1016/j.archoralbio.2019.02.008.

Figuroa-Gordon, M., Acevedo, AM. Alonso G. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de Caries dental. *Acta Odontológica Venez* 2009;41:227-40.

Frese DWC, Wolff TMTKB. Bacterial Biofilm Composition in Caries and Caries-Free Subjects 2013:69-77. doi:10.1159/000344022.

García-Castro L, Tello-Guerrero G, Álvaro-Ordoñez L, Perona-Miguel de Priego G. Caries dental y microbiota. Revisión. 2017. doi:https://doi.org/10.21142/2523-2754-0501-2017-%25p.

Gong J, Park H, Lee J, Seo H, Lee S. Effect of Photodynamic Therapy on Multispecies Biofilms, Including *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, and *Candida albicans*. Photobiomodulation, Photomedicine, Laser Surg 2019;XX:1-6. doi:10.1089/photob.2018.4571.

Gross EL, Beall CJ, Kutsch SR, Firestone ND, Leys EJ, Griffen AL. Beyond *Streptococcus mutans*: Dental Caries Onset Linked to Multiple Species by 16S rRNA Community Analysis. *PLoS One* 2012;7. doi:10.1371/journal.pone.0047722.



Guillen-Navarro M, Mira A, Simo A. Metatranscriptomics reveals overall active bacterial composition in caries lesions. *J Oral Microbiol* 2014;1:1-6. doi:10.3402/jom.v6.25443.

Gupta M. Sugar Substitutes: Mechanism, Availability, Current Use and Safety Concerns-An Update. *Open Access Maced J Med Sci* 2018;6:1888-94. doi:10.3889/oamjms.2018.336.

Hammes WP, Vogel RF. The genus *Lactobacillus*. *Lact. Acid Bact.* vol 2, Springer, Boston, MA: 1995, p. 19-54.

Hannig C, Hannig M, Kensche A, Carpenter G. The mucosal pellicle – An underestimated factor in oral physiology. *Arch Oral Biol* 2017;80:144-52. doi:10.1016/j.archoralbio.2017.04.001.

He J, Li Y, Cao Y, Xue J, Zhou X. The oral microbiome diversity and its relation to human diseases. *Folia Microbiol (Praha)* 2015;60:69-80. doi:10.1007/s12223-014-0342-2.

Hernández Viguera S. Determinación del perfil microbiano en patología periodontal en mujeres post-menopáusicas. TDX (Tesis Dr en Xarxa) 2015.

Hoceini A, Klouche Khelil N, Ben-Yelles I, Mesli A, Ziouani S, Ghellai L, *et al.* Caries-related factors and bacterial composition of supragingival plaques in caries free and caries active Algerian adults. *Asian Pac J Trop Biomed* 2016;6:720-6. doi:10.1016/j.apjtb.2016.06.011.

Jiang S, Gao X, Jin L, Lo ECM. Salivary microbiome diversity in caries-free and caries-affected children. *Int J Mol Sci* 2016;17. doi:10.3390/ijms17121978.

Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33:499-515. doi:10.1007/s10096-013-1993-7.

Lamont RJ, Eglund PG, Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB, Lamont RJ, *et al.* Dental Caries. *Mol Med Microbiol Second Ed* 2014;2-3:945-55. doi:10.1016/B978-0-12-397169-2.00052-4.

Lin TH, Lin CH, Pan TM. The implication of probiotics in the prevention of dental caries. *Appl Microbiol Biotechnol* 2018;102:577-86. doi:10.1007/s00253-017-8664-z.

Maraver F, Vitoria I, Almerich-Silla JM, Armijo F. Fluoruro en aguas minerales naturales envasadas en España y prevención de la caries dental. *Aten Primaria* 2015;47:15-24.



doi:10.1016/j.aprim.2014.04.003.

Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res* 2004;38:204-11. doi:10.1159/000077756.

Matsui R, Cvitkovitch D. Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*. *Future Microbiol* 2010;5:403-17. doi:10.2217/fmb.09.129.

Matsumoto-Nakano M. Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Jpn Dent Sci Rev* 2018;54:22-9. doi:10.1016/j.jdsr.2017.08.002.

McLean JS. Advancements toward a systems level understanding of the human oral microbiome. *Front Cell Infect Microbiol* 2014;4:1-13. doi:10.3389/fcimb.2014.00098.

Negrón M. Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.

Oda Y, Hayashi F, Okada M. Longitudinal study of dental caries incidence associated with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in patients with intellectual disabilities. *BMC Oral Health* 2015;15:1-5. doi:10.1186/s12903-015-0087-6.

Ojeda-Garcés JC, Oviedo-García E, Salas LA. *S. mutans*. *Rev CES Odont* 2013;26:44-56.

Pérez B, Silla Jm A, Márquez A, Gutiérrez A, González Jm, Díaz C, *et al*. Encuesta de Salud Oral en España 2015. *Rcoe* 2016;21:8-48. doi:10.1038/nmat1279.

Pitts NB, Ismail AI, Martignon S, Ekstrand K, A Douglas G, Longbottom C, *et al*. Guía ICCMS™ para clínicos y educadores Co-autores Contribuyentes. En nombre de los Autores Participantes del Taller de implementación del Sistema de Clasificación y Manejo de Caries (ICCMS™), realizado en Junio de 2013. *Int Caries Detect Assesment Syst* 2014.

Praveen T, Kotrashetti VS, Pattanshetty S, Hosmani J V., Babji D, Ingalagi P. Detection of different *Prevotella* species from deep dentinal caries of primary teeth - A culture and biochemical study. *J Adv Clin Res Insights* 2018;5:65-8. doi:10.15713/ins.jcri.213.

Pretty IA, Kidd EAM, Fejerskov O. *Essentials of dental caries*. 4º. Oxford University Press; 2016. doi:10.1038/sj.bdj.4812727.



Remington A, Turner CE. The DNases of pathogenic lancefield streptococci. *Microbiol (United Kingdom)* 2018;164:242-50. doi:10.1099/mic.0.000612.

Sánchez-Barriga R. Consideraciones clínico-patológicas de la caries de surcos y fisuras. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla, 2011.

Sharma M, Carson MD, Graham JY, Nelson LY, Patel S, Seibel EJ. Dental pH Opti - Wand (DpOW): measuring oral acidity to guide enamel preservation 2018:3738-41.

Simón-Soro A, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends Microbiol* 2015;23:76-82. doi:10.1016/j.tim.2014.10.010.

Song W, Ge S. Application of Antimicrobial Nanoparticles in Dentistry. *Molecules* 2019;24:1033. doi:10.3390/molecules24061033.

Spicer WJ. *Microbiología clínica y enfermedades infecciosas : texto y atlas en color*. Elsevier; 2009.

Tungare S, Paranjpe AG. *Diet and Nutrition To Prevent Dental Problems*. StatPearls Publishing; 2019.

Valdez RMA, dos Santos VR, Caiaffa KS, Danelon M, Arthur RA, Negrini T de C, *et al*. Comparative *in vitro* investigation of the cariogenic potential of bifidobacteria. *Arch Oral Biol* 2016;71:97-103. doi:10.1016/j.archoralbio.2016.07.005.

Van Loveren C. Sugar Restriction for Caries Prevention: Amount and Frequency. Which Is More Important? *Caries Res* 2019;53:168-75. doi:10.1159/000489571.

Ventura M, Turroni F, Zomer A, Foroni E, Giubellini V, Bottacini F, *et al*. The bifidobacterium dentium Bd1 genome sequence reflects its genetic adaptation to the human oral cavity. *PLoS Genet* 2009;5. doi:10.1371/journal.pgen.1000785.

Walsh T, Worthington H V, Glenny AM, Appelbe P, Marinho CC V, Shi X. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;1. doi:10.1002/14651858.CD007868.pub3.www.cochranelibrary.com.

Wood SR, Robinson C, Strafford S, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC. *The Chemistry of Enamel*



Caries. Crit Rev Oral Biol Med 2009;11:481-95. doi:10.1177/10454411000110040601.

Xaus J. Papel fisiológico de las bacterias comensales. Enferm. Inflamatoria Intest. al dia, vol. 3, 2004, p. 84-8. doi:10.1023/b.

Zaura E, Twetman S. Critical Appraisal of Oral Pre- and Probiotics for Caries Prevention and Care. Caries Res 2019. doi:10.1159/000499037.

Zhou X, Yuqing L. Subgingival Microbes. Atlas Oral Microbiol., Academic Press; 2015, p. 67-93. doi:10.1016/B978-0-12-802234-4.00004-5.

Zhu B, Macleod LC, Kitten T, Xu P. *Streptococcus sanguinis* biofilm formation & interaction with oral pathogens. Future Microbiol 2018;13:915-32. doi:10.2217/fmb-2018-0043.