

Revisiones Bibliográficas:

MICROORGANISMOS PRESENTES EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE LA PROGRESIÓN DE LA LESIÓN DE CARIES DENTAL

Título Corto: Microorganismos presentes en la lesión de Caries dental

Recibido para arbitraje: 06/06/2008

Aceptado para publicación: 19/06/2008

- **Figueroa-Gordon M^{1*}**, Especialista en Odontología Operatoria y Estética
- **Alonso, Guillermina³**, Doctora en Ciencias.
- **Acevedo AM²**, MSc, PhD

¹Profesor Asistente, Cátedra de Odontología Operatoria, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela

²Instituto de Investigaciones Odontológicas "Raúl Vincentelli", Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela.

³Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.

Autor de Correspondencia. Mercedes Figueroa Gordón, Cátedra de Odontología Operatoria, Facultad de Odontología, UCV E-mail: roaoun@cantv.net

Resumen

La caries dental es una enfermedad infecciosa de etiología multifactorial, donde los microorganismos organizados en una biopelícula, denominada Placa Dental, constituyen un factor determinante en el desarrollo de la lesión de caries, y esta representa el signo tardío de la enfermedad. La etapa inicial de la lesión se aprecia clínicamente como una *mancha blanca*, y a medida que progresa se desarrolla una cavidad con la dentina expuesta al medio bucal. En cada etapa de progresión de la lesión predominan especies microbianas, como resultado de una sucesión de microorganismos. En el caso de sujetos sanos libres de caries se ha podido observar el predominio de microorganismos distintos a aquellos asociados con la enfermedad, tal como *Streptococcus sanguinis*. Sin embargo, en sujetos afectados por la caries dental los estreptococos pertenecientes al grupo mutans han sido los preponderantes durante el inicio y progresión de la lesión, especialmente *Streptococcus mutans*, mientras que *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* predominan en las etapas avanzadas de la lesión.

Palabras claves: caries, mancha blanca, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*

Abstract

Dental caries is a multifactorial disease, where the microorganisms as a main ethological factor are organized in a biofilm called Dental Plaque. This constitutes the main factor in the development of the carious lesion, which clinically is seen as a white spot and may progress to develop a cavity with dentine exposed to oral cavity. At each stage of progression different microbial species lead as a result of a bacterial succession. In the case of caries free subjects, the presence of bacterial species other than those associated with the disease, such as *S. sanguinis*, had been observed. Whereas, at the onset and progression of the lesion species belong to the Mutans Streptococci group, especially *Streptococcus mutans*, are the main microorganisms. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* dominate in the advanced stages of the disease.

Keys words: caries, white spot, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*

La manifestación de la caries dental está mediada por mecanismos complejos que son iniciados por factores, entre los que se incluyen genéticos, conductuales, ambientales y microbianos(1). En el caso de los factores microbianos, la presencia de bacterias es fundamental para el inicio y progresión de las lesiones de caries, sin bacterias no hay lesión(2). De hecho se trata de una enfermedad infecciosa polimicrobiana(3,4) donde cada especie bacteriana individual puede contribuir colectivamente a

la cariogenicidad total de la biocomunidad de la placa dental (biopelícula dental) asociada a caries(5,6). Por ello, es importante entender el rol que juegan especies bacterianas específicas en la progresión de la caries dental.

En los humanos, durante los primeros años de vida, los microorganismos cariogénicos colonizan la biopelícula dental, y en presencia de condiciones ambientales favorables, estos microorganismos pueden proliferar induciendo el inicio de la enfermedad(7).

Cuando analizamos la progresión de una lesión de caries podemos identificar diferentes estadios o etapas de avance. La primera etapa clínicamente visible corresponde a la lesión inicial observada a nivel macroscópico como una *mancha blanca* y la etapa mas avanzada es observada como una cavidad profunda, con dentina expuesta, que puede extenderse hasta la pulpa. (Figura 1 y 2).

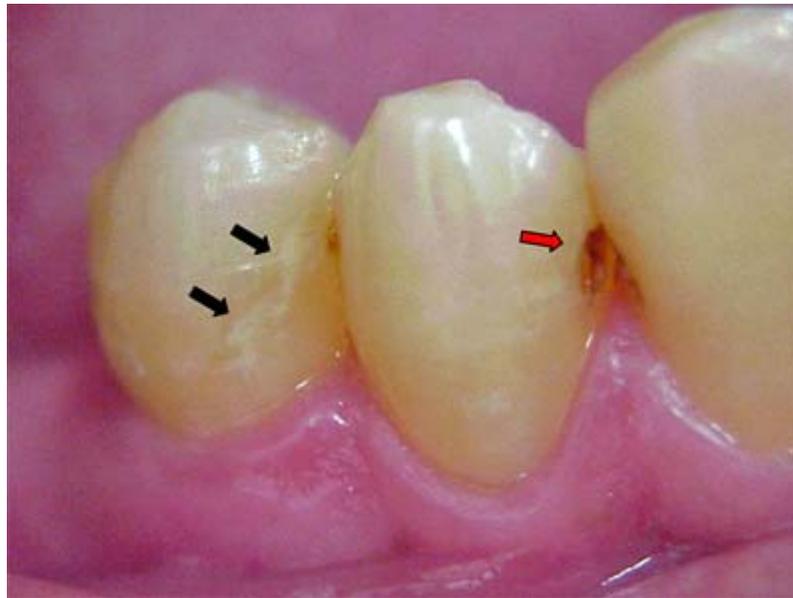


Figura 1: fotografía de lesión de mancha blanca (flecha negra) en primer premolar inferior izquierdo y lesión de caries cavitada (flecha roja) en canino inferior izquierdo.



Figura 2: fotografía de lesión de caries cavitada con dentina expuesta al medio bucal en canino inferior derecho.

Al determinar la presencia de ciertas especies bacterianas en cada etapa de avance de la lesión, se ha podido evidenciar que algunas especies bacterianas predominan sólo en las etapas iniciales, y otras predominan exclusivamente en las etapas avanzadas de la lesión. Este hecho demuestra una sucesión microbiana a lo largo del progreso o avance de la lesión, que puede estar mediado por la dieta y otros factores. Cada lesión de caries representa un ecosistema único, donde las especies microbianas presentes conforman una biopelícula, y en el que ocurren interrelaciones de sinergismo y antagonismo que determinan la presencia y el crecimiento de microorganismos oportunistas más virulentos y la inhibición de microorganismos residentes poco virulentos(5,7).

En esta revisión se analizará el papel que juegan los principales microorganismos que han sido reportados en las diferentes etapas de progresión de la lesión, así como los factores de patogenicidad que aceleran el proceso de desmineralización y desproteinización (proteolítico), implicados en el proceso de caries sobre los tejidos dentarios.

Para el inicio y progresión de la lesión de caries es esencial que las especies bacterianas involucradas tengan la habilidad de producir ácido (acidogénicas) y tolerar un medio de pH bajo (acidúricas). Además, debe considerarse también la virulencia particular de especies capaces de producir polímeros de sacarosa, y otras especies que aprovechan esta matriz de polímeros para su adherencia y colonización. A través de, este mecanismo estas últimas especies estarían involucradas en el inicio de la lesión de caries dental(2). La placa dental asociada a caries dental contiene altas proporciones de bacterias acidogénicas y acidúricas en comparación con la placa dental asociada a sujetos libres de caries dental(2,8).

Estudios realizados desde 1890, utilizando métodos de cultivo microbiológicos convencionales, demostraron que *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* estaban asociados a caries dental(9, 10, 11, 12). Cabe destacar que los estudios que soportaron estas evidencias se basaban en el uso exclusivo de medios de cultivo selectivos y no selectivos, originando el crecimiento de un número limitado de especies bacterianas presentes, y no ofrecían la información completa de aquellas especies bacterianas no cultivables presentes, que podían llegar a representar las especies más prevalentes o numerosas. Gracias a los estudios recientes, que han empleado métodos moleculares de identificación bacteriana, entre los que se destacan la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP), se ha revelado que las especies bacterianas implicadas en el desarrollo de la caries dental son más complejas y variadas que la simple presencia exclusiva de *S.mutans* y *Lactobacillus*(13).

Microorganismos bucales asociados a caries dental

A medida que la lesión de caries progresa, se da una transición de bacterias anaerobias facultativas Gram-positivas, que predominan en las etapas iniciales de la lesión, a bacterias anaerobias estrictas Gram-positivas y Gram-negativas que predominan en lesiones de caries avanzadas(14). Los factores que determinan esta sucesión microbiana son

desconocidos(15). Entre las bacterias asociadas con el inicio, progresión o avance de la lesión de caries dental citamos:

Streptococcus

Son cocos Gram positivos, dispuestos en cadenas cortas de 4 a 6 cocos o largas, los cuales miden de 0,5 a 0,8 µm de diámetro, anaerobios facultativos, comprenden parte de la flora microbiana residente de la cavidad bucal y vías respiratorias altas, pero también son patógenos oportunistas en enfermedades humanas como la caries dental y la endocarditis infecciosa, entre otras(16).

En la cavidad bucal se han aislado *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus sanguinis* (*Streptococcus sanguis*), *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus anginosus* y *Streptococcus oligofermentans*(17, 18, 19, 20). De todas estas especies *S. Streptococcus mutans* ha sido la más estudiada.

Entre los factores de patogenicidad presentes en *Streptococcus mutans*, se destacan: a) poder acidógeno, acidófilo y acidúrico(21, 22, 2), b) síntesis de polisacáridos extracelulares de tipo glucanos insolubles y solubles, y fructanos(23), c) síntesis de polisacáridos intracelulares(24), d) capacidad adhesiva por las proteínas salivales, que posibilitan su adhesión a superficies duras en ausencia de glucanos, y capacidad agregativa y coagregativa a través de mutanos, glucosiltransferasas y proteínas receptoras de glucanos y e) producción de bacteriocinas con actividad sobre otros microorganismos(25). La habilidad de *S. mutans* de sintetizar glucanos insolubles, a partir de la sacarosa de la dieta, a través de las glucosiltransferasas, facilita la formación de la biopelícula dental(16).

Se ha demostrado que *S. mutans* está implicado en el inicio de la lesión de caries, mediante estudios realizados en animales de experimentación, entre los que se destaca el estudio de Fitzgerald y Keyes(26), en 1960, quienes demostraron el papel de *S. mutans* como agente microbiano cariogénico en caries experimental en hamsters. También, quedó demostrada la presencia de altos contajes de *S. mutans* en humanos, en las muestras de placa dental in situ sobre lesiones de caries iniciales de *mancha blanca*(27). Además, van Houte(16), en 1994, señaló que *S. mutans* constituye una alta proporción de la flora cultivable antes y durante el inicio de la lesión de caries.

Por otra parte, Becker y col., (17) en 2002, a través de técnicas moleculares de identificación bacteriana, señalaron la presencia de *S. mutans* en todas las lesiones de caries profundas examinadas, indicando una fuerte asociación de esta especie con lesiones avanzadas de caries. Este hallazgo, contrasta con estudios anteriores donde se emplearon medios de cultivo, como los realizados por Loesche y Syed(11), en 1973, y por Hoshino y col., (28) en 1984, quienes reportaron que *S. mutans* solo constituye una pequeña parte de la flora cultivable en áreas profundas de dentina cariada. También, se reportaron la presencia, en lesiones de caries profunda, pero en menos cantidades, de *S. salivarius*, *S. parasanguinis* y *S. constellatus*, las cuales se encuentran asociadas con lesiones de caries profunda de caries(17).

Autores como, Berkowitz(29), Kohler y col., (30) van Houte y col., (31) han sugerido a *S. mutans* como el mayor agente etiológico microbiano en el desarrollo de caries *rampante por biberón*

En el caso de lesiones de caries radicular, Schûpbach y col., (18) en 1996, encontraron un mayor contaje de *S. mutans* en lesiones avanzadas que en lesiones iniciales. Mientras que Brailsford y col., (15) en 2001, señalaron que *S. mutans* constituye una pequeña proporción de la microflora presente en la zona radicular, y que no hay evidencia concluyente que indique que *S. mutans* inicie o este involucrado en la progresión de lesiones de caries radicular

A pesar de la evidencia que soporta la fuerte asociación de *S. mutans* con caries inicial y caries avanzada, Loesche y Straffon(32), en 1979, señalaron que la caries dental puede ocurrir en ausencia de *S. mutans*, asimismo, Kleinberg(33), en 2002, observó que individuos con altos contajes de *S. mutans* no necesariamente desarrollan lesiones de caries. Por otra parte, Okada y col., (34) y Linquist y col., (35) observaron que *S. sobrinus* es más acidogénico y más acidúrico que *S. mutans*, y la coexistencia de ambas especies es un factor determinante en el desarrollo de caries.

Braislford y col., 36 en 2005, notaron asociaciones significativas entre lesiones iniciales de mancha blanca en primeros molares permanentes recién erupcionados y el incremento del contaje de *S. oralis*, *S. mutans* y *S. salivarius*, mientras que la presencia de *Actinomyces naeslundii* en estas condiciones se relacionó con molares sanos. También, encontraron diferencias en la microbiota presente entre molares con lesión de mancha blanca parcialmente erupcionados y totalmente erupcionados, destacando la presencia de grandes proporciones de *S. oralis* y *S. salivarius* en los molares recién erupcionados, mientras que *S. mutans* fue aislado en grandes proporciones en aquellos molares completamente erupcionados. En este estudio quedó en evidencia que otros microorganismos no *S. mutans* están asociados al desarrollo de lesiones de caries iniciales en molares permanentes en erupción.

Lactobacillus

Son bacilos Gram-positivos, anaerobios facultativos, acidógenos y acidúricos, pH cercanos a 5 favorecen su crecimiento, así como el inicio de su actividad proteolítica. Algunas cepas sintetizan polisacáridos intra y extracelulares a partir de la sacarosa, pero se adhieren muy poco a superficies lisas, por lo que deben utilizar otros mecanismos para colonizar las superficies dentarias. Entre estos mecanismos podemos mencionar la unión física por atrapamiento en superficies retentivas, tales como: fosas y fisuras oclusales o caries cavitada, coagregación con otras especies bacterianas, constituyendo la biopelícula dental(37),

12, 25).

Hasta mediados de 1940 se consideró a *Lactobacillus* como el principal agente microbiano causante de la caries dental, luego por el estudio de Hemmens y col., (41) en 1946, quedó demostrado que *Lactobacillus* colonizaba sobre las lesiones ya formadas, y no predominaba en la placa dental durante las primeras etapas de formación de la lesión, por lo que desde entonces se considera a esta especie bacteriana como un oportunista secundario, que está implicado en la progresión de la lesión de caries y que prevalece en las etapas avanzadas de la misma(16).

De acuerdo a la actividad metabólica sobre los hidratos de carbono, *Lactobacillus* es clasificado en Grupo I, II y III. Entre el Grupo I se encuentran *L. delbrueckii* y *L. salivarius* y son homofermentativos; en el Grupo II, que son heterofermentativos facultativos, se encuentran *L. casei*, y *L. plantarum* y en el Grupo III son heterofermentativos estrictos, donde se encuentra *L. fermentum* y *L. oris*. En presencia de gluconato se comportan como heterofermentativos estrictos, produciendo acetato, etanol, formiato, lactato y CO₂. En presencia de glucosa, se comportan como homofermentativos produciendo lactato sin CO₂, pero como producen la enzima piruvato-formato liasa, pueden producir acetato, etanol y formiato, pero sin CO₂(37).

Entre las especies de *Lactobacillus* aisladas en lesiones de caries dentinaria se distinguen: *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. gasseri*, *L. ultunensis*. *L. salivarius*, *L. crispatus*, *L. fermentum*, *L. panis*, *L. nagelli* *L. delbrueckii* y *L. gallinarum*(38, 39, 40).

En un estudio realizado por Martin y col., (42) en 2002, se identificaron por técnicas de cultivo los microorganismos presentes en 65 lesiones de caries avanzadas en dentina, reportando altos contajes de *Lactobacillus* en estas muestras. Estos resultados los llevaron a realizar otro estudio, publicado por Byun y col., (38) en 2004, cuyo objetivo fue definir con precisión la diversidad y la cuantificación de *Lactobacillus* presentes en estas muestras utilizando RCP a tiempo real. Se detectaron 18 filotipos diferentes de *Lactobacillus*, y el grupo de *L. casei* que incluye *L. casei*, *L. paracasei* y *L. rhamnosus* fueron las especies con mayor prevalencia, presentes en el 68% de las muestras. Además, todas las muestras contenían al menos tres especies de *Lactobacillus*. En cuanto a la cuantificación de las especies los resultados mostraron que *L. gasseri* y *L. ultunensis* estuvieron presentes en mayor número, sugiriendo una asociación entre estas dos especies y la caries dentinaria avanzada.

Actinomyces

Son bacilos filamentosos Gram positivos, anaerobios y heterofermentativos. Son inmóviles y su tamaño varía entre 1 y 4 m aproximadamente. Producen una mezcla de ácidos orgánicos, como productos finales, tales como: succínico, láctico o acético. Entre los factores que determinan su virulencia se considera la presencia de fimbrias, que contribuyen con fenómenos de adhesión, agregación y congregación y la producción de enzimas proteolíticas como la neuraminidasa, esta última es de gran importancia cuando las lesiones de caries progresan a dentina profunda(43, 44, 37).

En cuanto a los estudios que hacen referencia a la presencia de *Actinomyces* en lesiones de caries radicular, se ha reportado la presencia de: *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces eriksonii*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces georgiae* y *Actinomyces gerencseriae*(18, 45, 46, 47), pero su rol en el inicio y progresión de la lesión de caries no es concluyente(12, 45). En un estudio publicado en 1957, por Howell y col., (48) se demostró que *A. viscosus* y *A. naeslundii* están implicados en la formación de lesiones de caries radicular en la dentición humana. Posteriormente, en estudios realizados en animales de experimentación (ratas y hamsters) quedó demostrado el papel de *A. viscosus* y *A. naeslundii* como agente microbiano iniciador de lesiones de caries radicular(49, 50, 51).

Actinomyces se encuentra entre los primeros colonizadores de la cavidad bucal en niños. Sarkonen y col.,(52) en 2000, estudiaron la colonización de *Actinomyces* en niños hasta los 2 años de edad, y examinaron la ocurrencia de la especie en la saliva de 39 niños sanos a los 2, 6, 12, 18 y 24 meses de edad. La frecuencia de la flora total de *Actinomyces* se incrementó de 31% a 97% a los dos años de edad. *A. odontolyticus* fue la primera especie colonizadora entre el género que predominó en todas las edades estudiadas, y *A. naeslundii* fue la segunda en predominar pero después del año de edad. *A. odontolyticus* colonizó sobre mucosa bucal y ésta no dependió de la erupción dentaria, mientras que en el caso de *A. naeslundii* se destacó la ausencia de esta especie hasta el año de edad y la colonización de dicho microorganismo depende de la erupción dentaria. En este estudio también se aislaron *A. viscosus*, *A. gerencseriae* y *A. israelii*. Boyar y Bowden(53) en 1985, asociaron la presencia de *A. odontolyticus* con lesiones de caries en dentición primaria. Además, se detectaron altas cantidades de microorganismos identificados como *A. gerencsiare* en lesiones iniciales de *mancha blanca*, en niños en edades comprendidas entre 2 a 8 años, sugiriendo que esta especie interviene en el inicio de la lesión de caries en niños. Esta especie es residente común de la cavidad bucal en niños una vez que han erupcionado los dientes y produce ácido láctico al metabolizar hidratos de carbono por lo que puede ser el blanco para prevenir el inicio de la enfermedad(17).

Schupbach y col., (18) en 1996, estudiaron los microorganismos presentes en lesiones de caries radicular con diferentes grados de severidad. El diseño experimental del estudio permitió observar la correlación de los estados histopatológicamente distinguibles con poblaciones microbianas específicas. Los resultados del estudio demostraron una proporción significativamente mayor de *A. naeslundii* en lesiones iniciales que en lesiones avanzadas, además destacaron que *S. mutans* predominó en lesiones avanzadas, y que el contaje de *Lactobacillus* fue muy bajo en estas mismas lesiones.

Bifidobacterium

Son bacilos anaeróbicos, Gram-positivos, inmóviles, con frecuencia se agrupan en formaciones ramificadas(37), están presentes generalmente en el tracto gastrointestinal sano de humanos y animales(54). En 1974, Scardovi y Crociani(55)

describieron especies de *Bifidobacterium dentium* aislados de caries dental en humanos. Posteriormente, Beerens y col.,(56) en 1957, aislaron de caries dental cepas de *Bifidobacterium* y las identificaron como *B. dentium*.

En 1996, Crociani y col.,(57) describieron dos nuevas especies de *Bifidobacterium*: *Bifidobacterium inopinatum* y *Bifidobacterium denticolens*, ambas aisladas de caries dental. Estas dos especies fueron recientemente, reclasificadas de acuerdo a un análisis de la secuencia génica de la proteína de choque térmico 60, basándose en el segmento 16S del ARN ribosomal, en dos nuevos géneros llamados: *Scardovia inopinata* (*B. inopinatum*) y *Parascardovia denticolens* (*B. denticolens*)(58).

En un estudio reciente publicado en 2006, Modesto y col., (59) analizaron la prevalencia y las especies predominantes pertenecientes al Género *Bifidobacterium* en caries dental y placa dental humana tomada de superficies dentales libres de caries. Las tres especies aisladas fueron *B. dentium*, *S. inopinata* (*B. inopinatum*) y *P. denticolens* (*B. denticolens*), las cuales estuvieron presentes en 13 de 19, y 11 de 15, muestras de caries dental y placa dental, respectivamente. *S. inopinata* fue la especie más frecuentemente aislada de caries dental, mientras que *B. dentium* fue la más numerosa en placa dental, mientras que, la prevalencia de *P. denticolens* fue similar en ambos hábitats. En este estudio queda en evidencia que este Género forma parte de la microflora residente de la cavidad bucal.

Existen pocos estudios que asocian a *Bifidobacterium* con alguna etapa específica de la progresión de la lesión de caries. Entre los pocos estudios realizados podemos citar el de Becker y col., (17) en 2002, que demuestra la ausencia de esta especie en las lesiones iniciales de caries, pero una alta prevalencia tanto en lesiones cavitadas no profundas como en dentina cariada profunda, siendo esta mayor que *S. mutans* y más aún que *L. fermentum*. *Bifidobacterium* fue el patógeno presente mayoritariamente en lesiones de caries avanzada en este estudio, lo que sugiere la asociación positiva de *Bifidobacterium* con la progresión de caries dental.

Sin embargo, *Bifidobacterium* puede jugar un doble papel, en la enfermedad y en la salud, el primero como promotor del proceso cariogénico, al producir ácido láctico, y el segundo en la reducción de la formación de la matriz extracelular de la biopelícula dental por la capacidad de sintetizar de la enzima gluconasa, la cual tiene actividad específica en la hidrólisis del glucán(59, 60).

Prevotella

Se trata de bacilos anaerobios estrictos, Gram-negativos, no esporulados, inmóviles(37), con marcada actividad proteolítica y de hemolisina. En 1990, algunas especies de *Bacteroides* fueron reclasificadas dando origen al Género *Prevotella*. Las especies más comunes encontrados en cavidad bucal son *Prevotella melaninogénica*, *Prevotella oralis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella buccae*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella denticola* y *Prevotella loeschii*. La presencia de *Prevotella* está asociada a enfermedad periodontal, e infecciones endodónticas, pero en el caso de caries dental no esta claro el papel que juegan en la progresión de la lesión(61, 62, 63).

En el estudio de Schupbach y col., (18) antes mencionado, si bien los microorganismos Gram negativos constituyeron el menor porcentaje de la microbiota presente tanto en lesiones iniciales como en lesiones avanzadas de caries radicular, entre las bacterias Gram negativas presentes se encontraron *Prevotella*, *Selenomonas* y *Bacteroides*. De las especies de *Prevotella* aisladas en este estudio cabe señalar la presencia de *P. buccae* en lesiones iniciales y de *P. buccae*, *P. intermedia* y *P. denticola* en lesiones avanzadas de caries.

La presencia de *Prevotella* en lesiones de caries dentinaria ha sido estudiada con mas detalle a partir de la década de los 90, utilizando técnicas moleculares de identificación bacteriana(64, 42, 65). Nadkarni y col.,(66) en 2004, a través de RCP a tiempo real, demostraron que las lesiones de caries avanzada en dentina conforman un hábitat favorable para el crecimiento de especies de *Prevotella* no cultivables, pudiendo en algunas lesiones dominar la comunidad polimicrobiana presente en las mismas.

Martin y col., (42) en 2002, cuantificaron las bacterias aisladas de 65 lesiones de caries dentinaria por contaje de colonias y RCP a tiempo real, y correlacionaron el número y tipo de bacterias con patología pulpar. En el caso de *Prevotella*, esta fue observada en el 91% de las muestras por contaje de colonias y en el 97% de la muestras por RCP a tiempo real, quedando en evidencia la asociación positiva de especies de *Prevotella* con lesiones de caries avanzadas.

Veillonella

Son diplococos Gram negativos, anaerobios estrictos, inmóviles que conforman parte de la flora residente en cavidad bucal y vías respiratorias altas. La colonización primaria de *Veillonella* es independiente de la presencia de dientes erupcionados(67). A pesar de que *Veillonella* ofrece una pobre adherencia directa a los tejidos del hospedero de la cavidad bucal(68), su presencia en grandes cantidades en placa dental subgingival, placa dental supragingival y sobre superficies mucosas bucales(69, 70), se debe a mecanismos de coagregación interbacteriana(71).

La importancia de su presencia en los ecosistemas bucales está relacionada con el mantenimiento de la homeostasis y la capacidad que posean de neutralizar los ácidos producidos por los microorganismos cariogénicos(72). *Veillonella* no metaboliza los hidratos de carbono, pero si metaboliza el ácido láctico producido por otras bacterias para formar ácido propiónico y ácido acético, ambos ácidos son más débiles que el ácido láctico(72, 73).

La presencia de *Veillonella* ha sido asociada con salud bucal, ya que se han encontrado contajes inusualmente elevados de esta especie en la cavidad bucal de niños y adultos libres de caries(74). Además, se observó en ratas infectadas simultáneamente con *S. mutans*, *S. sanguis* y *Veillonella sp* índices más bajos de caries, en comparación con ratas mono infectadas con alguna de estas bacterias(75).

Sin embargo, estos resultados contradicen el estudio in vitro realizado por Noorda y col., (76) en 1988, quienes observaron que la coexistencia de *Veillonella* y *S. mutans* favorece una mayor producción de ácido y desmineralización que cuando esta presente *S. mutans* solo. Este estudio sugiere que la utilización del ácido láctico por parte de *Veillonella* puede ser un factor importante en el proceso de caries, ya que mantiene las condiciones de este hábitat favorable para la producción de ácidos por comunidad polimicrobiana de la biopelícula dental.

No se conoce si existe una asociación de *Veillonella* con caries dental, pero Becker y col., (17) en 2002, encontraron niveles relativamente altos de *Veillonella* en todos los sujetos tanto sanos como con caries y destacaron que los contajes fueron significativamente más numerosas en lesiones dentinarias profundas que en cualquier otro sitio. Este hallazgo no concuerda con la asociación positiva de *Veillonella* con sujetos sanos libres de caries, por lo que es pertinente realizar más investigaciones al respecto.

Microorganismos bucales asociados a sujetos con caries dental y sujetos sanos libres de caries dental.

Entre los estudios más recientes que han identificado tanto las especies bacterianas implicadas con cada etapa de avance de la lesión de caries como aquellas especies bacterianas que prevalecen en sujetos sanos, podemos citar el de Becker y col., (17) en 2002; Tong y col., (20) en 2003; Corby y col., (1) en 2005; Li y col., (77) en 2006; y Aas y col., (78) en 2005.

Aas y col., (78) determinaron la microflora humana de la cavidad bucal sana a través de técnicas moleculares de identificación bacteriana. Estimaron que el 60 % de los microorganismos presentes en cavidad bucal no son cultivables. Entre los microorganismos reportados en la totalidad de los sitios analizados (dorso de lengua, áreas laterales de lengua, epitelio bucal, paladar duro, paladar blando, placa dental supragingival, placa dental subgingival, vestíbulo anterior maxilar y amígdalas) se encontraron *S. mitis*, *Veillonella* y *Gemella*. *S. mitis* fue la especie predominante en todos los sitios analizados (tejidos duros y tejidos blandos) y en todos los sujetos (5) del estudio, por lo que se sugiere su asociación con sujetos sanos sin caries, pero al mismo tiempo esta fuertemente asociada con endocarditis infecciosa, especialmente, en pacientes con válvulas protésicas(79). Además la flora bacteriana comúnmente asociada con caries dental y lesiones de caries avanzadas en dentina, representadas por *S. mutans*, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, no se detectó en la placa dental supragingival y subgingival de estos sujetos sanos.

Becker y col.,(17) compararon las bacterias encontradas en placa dental de 30 sujetos con caries y 30 sujetos sanos, a través de métodos de identificación molecular (RCP), con el objetivo de identificar especies no cultivables y especies no asociadas anteriormente con caries dental. Las muestras de placa dental de los sujetos con caries fueron recolectadas de esmalte sano y de lesiones en varias etapas de progresión (*mancha blanca*, lesiones cavitadas no profundas y dentina cariada profunda). Para determinar la asociación de especies bacterianas con la severidad de las lesiones de caries, las muestras obtenidas de esmalte sano fueron comparadas con aquellas obtenidas de lesiones progresivamente profundas. Se observaron diferencias significativas en nueve microorganismos. *S. sanguinis* fue asociada a sujetos sanos y en orden decreciente asociado a caries: *A. gerencseriae*, *Bifidobacterium*, *S. mutans*, *Veillonella*, *S. salivarius*, *S. constellatus*, *S. parasanguinis* y *L. fermentum*. Especies de *Actinomyces*, en particular *A. gerencseriae* jugaron un papel relevante en el inicio de caries, mientras que *Bifidobacterium* fue el patógeno reportado mayoritariamente en caries avanzada.

Li y col.,(77) en 2007, evaluaron las diferencias en la diversidad microbiana presente en la placa dental entre un grupo de niños de origen hispano, en edades comprendidas entre 8 y 10 años, con lesiones de caries severa en edad temprana, y un grupo de niños sin caries. En el grupo con caries se observaron 95 especies y en el grupo sin caries 113 especies. Estos resultados sugieren que la diversidad y complejidad de la microbiota en la placa dental es significativamente menor en niños con caries que en niños libres de caries. Por lo que se sugiere que la microbiota bucal asociada a caries dental presenta menor diversidad de especies microbianas, probablemente porque ciertos grupos de microorganismos suplantaron o dominan la biopelícula de la placa dental permitiendo la progresión de la lesión de caries.

Corby y col., (1) en 2005, estudiaron por RCP por transcriptasa reversa, las especies bacterianas asociadas con caries dental y con salud dental en un grupo de 204 individuos gemelos, en edades comprendidas entre 1,5 y 7 años de edad. Se analizaron un total de 448 muestras de placa dental, 118 recolectadas de sujetos libres de caries y 330 recolectadas de sujetos con caries. Se diseñaron dos modelos de estudio, en el primer modelo se compararon las bacterias encontradas en la placa dental de sujetos con caries en esmalte intacto sano y en lesiones con diferentes grados de severidad (lesión de *mancha blanca*, lesión cavitada en esmalte y lesión cavitada en dentina), con bacterias encontradas en la placa dental de sujetos libres de caries. En el segundo modelo se compararon las especies bacterianas encontradas en la placa dental de sujetos libres de caries con las especies bacterianas encontradas en la placa dental de superficies de esmalte sano en sujetos con caries. En ambos modelos hubo coincidencia en cuanto a la abundancia de microorganismos asociados con caries, siendo identificadas bacterias Gram-positivas, tales como: *Actinomyces*, *Lactobacillus* y *S. mutans*, mientras que los sujetos libres de caries presentaron abundancia de otras bacterias tales como: *S. parasanguinis*, *Abiotrophia defectiva*, *Gemella haemolysans*, *S. mitis/oralis*, *Streptococcus cristatus* y *S. sanguinis*.

En este estudio de Corby y col., (1) se encontraron altos contajes de *S. mutans* en el 90% de los sujetos con caries, mientras que en los sujetos libres de caries esta especie constituyó una de las especies menos numerosas. En el caso de *Lactobacillus* se encontró con alta frecuencia en sujetos con caries y en un solo sujeto sin caries.

En el caso de *Actinomyces*, se encontraron con alta frecuencia tanto en sujetos con caries como en sujetos sanos, pero con diferencias estadísticamente significativas entre las especies de *Actinomyces* presentes. Una especie en particular *Actinomyces* spp. cepa B19SC fue significativamente mas numerosa en sujetos con caries en comparación con sujetos sanos.

Cabe destacar que en los estudios de Corby y col.,(1) y de Becker y col.,(17) se demostró una asociación positiva de *S. sanguinis* (anteriormente *S. sanguis*) con salud bucal, sin embargo esta misma especie esta asociada a endocarditis infecciosa(79).

En 1970, Carlsson y col., (80) estuvieron entre los primeros en describir las características taxonómicas de *S. sanguinis* en cavidad bucal y observaron que, coloniza en boca una vez ocurrida la erupción dentaria en niños, y que esta colonización precede la colonización de *S. mutans*. Posteriormente, Caufield y col.,(81) en 1993, señalaron que la colonización de *S. sanguinis* en cavidad bucal ocurre alrededor de los 9 meses de edad, y la colonización de *S. mutans* ocurre aproximadamente a los 26 meses de edad. También señalaron que la colonización de ambas especies en boca depende de la presencia de dientes.

Además, la colonización temprana de *S. sanguinis* y sus elevados niveles en cavidad bucal fueron correlacionados con un retardo de 6 meses en la colonización de *S. mutans*. Una vez que *S. mutans* coloniza en la cavidad bucal de los niños, los niveles de *S. sanguinis* disminuyen, indicando un aparente antagonismo entre estas especies. Se observó también que los niños que no presentaron niveles detectables de *S. mutans* en saliva, tenían niveles significativamente altos de *S. sanguinis* en saliva, en comparación con aquellos niños en los cuales se les detectó niveles de *S. mutans* en saliva. Todos estos hallazgos en conjunto sugieren que la colonización de *S. sanguinis* puede influir en la sucesiva colonización de *S. mutans* y esto puede constituir el blanco de un abordaje para controlar la caries dental(82).

Conclusiones

- El predominio de *S. sanguinis* y *S. mitis* en cavidad bucal se asocia a sujetos sanos libres de caries.
- *S. mutans* se relaciona con el inicio y progresión de las lesiones de caries, aunque su presencia no es indispensable para el desarrollo de la enfermedad, por lo que *S. mutans* puede no representar un factor etiológico bacteriano determinante.
- El predominio de especies de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Prevotella* en las etapas avanzadas de las lesiones de caries, y su ausencia en la biopelícula dental de lesiones iniciales, demuestra que estos microorganismos son oportunistas secundarios, que colonizan la biopelícula de lesiones avanzadas contribuyendo con la progresión de la lesión de caries.
- La presencia de *Actinomyces* en niños se asocia con el inicio de lesiones de caries en dentición primaria, y en adultos con el inicio de lesiones de caries radicular.
- La importancia de entender los procesos que conllevan a la sucesión bacteriana durante el desarrollo y progresión de la lesión de caries, así como la identificación de especies iniciadores del signo de la enfermedad, radica en que pueden ser el blanco de diferentes mecanismos terapéuticos para evitar la progresión de la lesión y evitar técnicas invasivas que conllevan al sacrificio de tejido dentario.

Referencias Bibliográficas

1. Corby PM, Lyons-Weiler J, Bretz WA, Hart TC, Aas JA, Boumenna T, Goss J, Corby AL, Junior HM, Weyant RJ, Paster BJ. Microbial Risk Indicators of Early Childhood Caries. J Clin Microbiol 2005, 43(11): 5753-5759
2. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. Community Dent Oral Epidemiol 2005, 33: 248-255
3. Marchant S, Brailsford SR, Twomey AC, Roberts GJ, Beighton D. The predominant microflora of

- nursing caries lesions. *Caries Res* 2001, 35:397-406
4. Milnes AR, Bowden GH. The microflora associated with developing lesions of nursing caries. *Caries Res* 1985, 19:289-297
 5. Costerton JW. Overview of microbial biofilms. *J Ind Microbiol* 1995, 15: 137-140
 6. Kolenbrander PE, Ganeshkumar N, Cassels FJ, Hughes CV. Coaggregation: specific adherence among human oral plaque bacteria. *FASEB J* 1993, 7:406-413
 7. Scheie AA, Petersen FC. The biofilm concept: consequences for future prophylaxis of oral diseases? *Crit Rev Oral Biol Med* 2004, 15: 4-12
 8. Lingstrom P, van Ruyven FO, van Houte J, Kent R. The pH of dental plaque in its relation to early enamel caries and dental plaque flora in humans. *J Dent Res* 2000, 79: 770-777
 9. Miller WD. (1890) *Microorganisms of the Human Mouth*. Unaltered reprint with an introductory essay by KG König (Nijmegen) Basilea; S. Karger. 1973
 10. Clarke JK. On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *J Exp Pathol* 1924, 5:141
 11. Loesche WJ, Syed SA. The predominant cultivable flora of carious plaque and carious dentine. *Caries Res* 1973, 7: 201-216
 12. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ* 2001, 65: 1028-1037.
 13. Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000, 64: 847-867
 14. Hoshino E. Predominant obligate anaerobes in human carious dentin. *J Dent* 1985, 64: 1195-1198
 15. Brailsford SR, Shah B, Simons D, Gilbert S, Clark D, Ines I, Adams SE, Allison C, Beighton D. The Predominant Aciduric Microflora of Root-caries Lesions. *J Dent Res* 2001, 80(9): 1828-1833
 16. van Houte J. Role of Micro-organisms in Caries Etiology. *J Dent Res* 1994,73(3): 672-681
 17. Becker MR, Paster BJ, Leys EL, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries. *J Clin Microbiol* 2002,40(3): 1001-1009
 18. Schüpbach P, Osterwalder V, Guggenheim B. Human Root Caries: Microbiota of a Limited Number of Root Caries Lesions. *Caries Res* 1996, 30:52-64
 19. 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
 20. Tong H, Gao X, Dong X. *Streptococcus oligofermentans* sp.nov., a novel oral isolate from caries-free humans. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003, 53: 1101-1104
 21. de Soet JJ, Nyvad B, Kilian M. Strain-related acid production by oral streptococci. *Caries Res* 2000, 34: 486-490
 22. Kohler B, Birkhed D, Olsson S. Acid production by human strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Caries Res* 1995, 29:402-406
 23. Minah GE, Loesche WJ. Sucrose metabolism by prominent members of the flora isolated from

- cariogenic and non-cariogenic dental plaques. *Infection and Immunity* 1977,17:55-61
24. Gibbons RJ, Socransky SS. Intracellular polysaccharide storage by organisms in dental plaques. *Arch Oral Biol* 1962,7:73-80
 25. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986, 50: 353-380
 26. Fitzgerald RJ, Keyes PH. Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. *JADA* 1960,61:9-19
 27. Arneberg P, Ôgaard B, Scheie AA, Rôlla G. Selection of *Streptococcus mutans* and Lactobacilli in an Intra-oral Human Caries Model. *J Dent Res* 1984, 63(10):1197-1200
 28. 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
 29. Berkowitz R. Etiology of nursing caries: a microbiologic perspective. *J Public Health Dent* 1996, 56: 51-54
 30. Kohler B, Andreen L, Jonsson B. The earlier the colonization by mutans Streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age. *Oral Microbiol Immunol* 1988, 3: 14-17
 31. van Houte J, Gibbs G, Butera C. Oral flora of children with "nursing bottle caries". *J Dent Res* 1982, 61: 382-385.
 32. Loesche WJ, Straffon LH. Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. *Infect Immun* 1979, 26: 498-507
 33. Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and specific-plaque hypothesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002, 13: 108-125
 34. Okada M, Soda Y, Hayashi F, Doi T, Suzuki J, Miura K, Kosai K. PCR detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in dental plaque samples from pre-school children. *J Med Microbiol* 2002, 51:443-447
 35. Lindquist B, Emilson CG. Dental location of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in humans harbouring both species. *Caries Res* 1991, 25: 146-152
 36. Brailsford SR, Sheehy EC, Gilbert SC, Clark DT, Kidd EAM, Zoitopoulos, Adams SE, Visser JM, Beighton D. The microflora of the Erupting First Permanent Molar. *Caries Res* 2005, 39:78-84
 37. Baca García P, Baca García A, Maestre Vera JR. Microbiología de la caries. En: Liébana Ureña. *Microbiología Oral*. Madrid. McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A.U.,2002; 561-570
 38. Byun R, Nadkarni MA, Chhour K-L, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Quantitative Analysis of Diverse *Lactobacillus* Species Present in Advanced Dental Caries. *J Clin Microbiol* 2004, Vol.42,7: 3128-3136
 39. Munson MA, Banerjee A, Watson TF, Wade WG. Molecular Analysis of the Microflora Associated with Dental Caries. *J Clin Microbiol* 2004, 42(7): 3023-3029
 40. Chhour K-L, Nadkarni MA, Byun R, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Molecular Analysis of Microbial Diversity in Advanced Caries. *J Clin Microbiol* 2005,43(2): 843-849
 41. Hemmens ES, Blaney JR, Bradel SF, Harrison RW. The microbic flora of dental plaque in relation

- to the beginning of caries. J Dent Res 1946, 25: 195-205
42. Martin FE, Nadkarni MA, Jacques NA, 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: 1698-1704
 43. Cisar JO, Sandberg AL, Clark WB. Molecular aspects of adherence of *Actinomyces viscosus* and *Actinomyces naeslundii* to oral surfaces. J Dent Res 1989,68(Spec Iss): 1558-1559
 44. Kolenbrander PE, Andersen RN, Moore LV. Intrageneric coaggregation among strains of human oral bacteria: potential role in primary colonization of the tooth surface. Appl Environ Microbiol 1990, 56: 3890-3894
 45. Brailsford SR, Tregaskis RB, Leftwich HS, Beighton D. The Predominant *Actinomyces spp.* Isolated from Infected Dentin of Active Root Caries Lesions. J Dent Res 1999, 78(9):1525-1534
 46. Syed SA, Loesche WJ, Pape HLJ; Grenier E. Predominant cultivable flora isolated from human root surface caries plaque. Infect Immun 1975, 11:727-731
 47. Ellen RP, Banting DW, Fillery ED. Longitudinal microbiological investigation of a hospitalized population of older adults with a high root surface caries risk. J Dent Res 1985b, 64:1377-1381
 48. Howell A Jr, Jordan HV, Georg LK, Pine L. *Odontomyces viscosus*, gen. nov; a filamentous microorganism isolated from periodontal plaque in hamsters. J Dent Res 1957, 35: 65-68
 49. Jordan HV, Hammond BF. Filamentous bacteria isolated human root surface caries. Arch Oral Biol 1972, 17: 1333-1342
 50. Irving JT, Socransky SS, Heeley JD. Histological changes in experimental periodontal disease in gnotobiotic rats and conventional hamsters. J Periodont Res 1974, 9:73-80
 51. van der Hoeven JS, Mikx FH, König KG, Plasschaert AJ. Plaque formation and dental caries in gnotobiotic and SPF Osborne-Mendel rats associated with *Actinomyces viscosus*. Caries Res 1974, 8:211-223
 52. Sarkonen N, Kõnönen E, Summanen P, Karnero A, Takala A, Jousimies-Somer H. Oral Colonization with *Actinomyces* Species in Infants by Two Years of Age. J Dent Res 2000, 79(3): 864-867
 53. Boyar RM, Bowden GH. The microflora associated with the progression of incipient carious lesions in teeth of children living in a water-fluoridated area. Caries Res 1985,19: 298-306
 54. Scardovi V. Genus *Bifidobacterium* Orla-Jensen; in Sneath PHA: Mair NS; Sharpe ME, Holt JG (eds): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore, Williams and Wilkins, 1986, vol 2, pp 1418-1434.
 55. Scardovi V, Crociani F. *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium dentium*, and *Bifidobacterium angulatum*: three new species and their deoxyribonucleic acid homology relationships. Int J Syst Bacteriol 1974; 24:6-20
 56. Beerens H, Gérard A, Guillarme J: Etude de 30 souches de *Bifidobacterium bifidum* (*Lactobacillus bifidus*). Caractérisation d'une variété buccale. Comparaison avec les souches d'origine fécale. Ann Inst Pasteur Lille 1957; 9:77-85.
 57. F Crociani, B Biavatti, A Alessandrini, C Chiarini, V Scardovi. *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
 58. Jian W, Dong X. Transfer of *Bifidobacterium inopinatum* and *Bifidobacterium denticolens* to

- Scardovia inopinata gen.nov.,comb.nov.,and Parascardovia denticolens gen. nov., comb.nov., respectively. Int J Syst Evol Microbiol 2002, 52: 809-812
59. Modesto M, Biavati B, Mattarelli P. Occurrence of the Family Bifidobacteriaceae in Human Dental Caries and Plaque. Caries Res 2006, 40:271-276
 60. Kaster AG, Brown LR. Extracellular dextranase activity produced by human oral strains of the genus Bifidobacterium. Infect Immun 1983, 42:716-720
 61. Iwara K, Kuriyama T, Shimura S, Williams DW, Yanagisawa M, Nakagawa K y Karasawa T. Detection of *cfxA* and *cfxA2*, the β -Lactamase Genes of *Prevotella* spp., in Clinical Samples from Dentoalveolar Infection by Real-Time PCR. J Clin Microbiol 2006, 44(1): 172-176
 62. DOUNGUDOMDACHA S, RAWLINSON A, DOUGLAS CWI. Enumeration of *Porphyromonas ginigivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetencomitans* in subgingival plaque samples by a quantitative-competitive PCR method. J Med Microbiol 2000, 49: 861-874
 63. VICKERMAN MM, BROSSARD KA, FUNK DB, JESIONOWSKI AM, GILL SR. Phylogenetic analysis of bacterial and archaeal species in symptomatic and asymptomatic endodontic infections. J Med Microbiol 2007, 56: 110 - 118.
 64. Hahn CL, Falkler Jr WA, Minah GE. Microbiological studies of carious dentine from human teeth with irreversible pulpitis. Arch Oral Biol 1991, 36: 147-153
 65. Massey WL, Romberg DM, Hunter N, Hume WR. The association of carious dentin microflora with tissue changes in human pulpitis. Oral Microbiol Immunol 1993, 8: 30-35
 66. Nadkarni MA, Caldon CE, Chhour KL, Fisher IP, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Carious Dentine Provides a Habitat for a Complex Array of Novel *Prevotella*-Like Bacteria. J of Clin Microbiol 2004, 42(11): 5238-5244
 67. Könönen E, Kanervo A, Takala A, Asikainen S, Jousimies-Somer H. Establishment of oral anaerobic microflora during the first year of life. J Dent Res 1999, 78: 1634-1639
 68. McBride BC, van der Hoeven JS. Role of interbacterial adherence in colonization of the oral cavities of gnotobiotic rats infected with *Streptococcus mutans* and *Veillonella alcalescens*. Infect Immun 1981, 33:467-472
 69. Moore WEC, Holdeman LV, Cato EP, Smibert RM, Burmeister JA, Palcanis KG, Ranney RR. Comparative bacteriology of juvenile periodontitis. Infect Immun 1985, 48:507-519
 70. Liljemark WF, Gibbons RJ. Ability of *Veillonella* and *Neisseria* species to attach to oral surfaces and their proportions present indigenously. Infect Immun 1971, 4:264-268
 71. Hughes CV, Kolenbrander PE, Andersen RN, Moore LVH Coaggregation properties of human oral *Veillonella* spp.: relationship to colonization site and oral ecology. Appl Environ Microbiol 1988, 54: 1957-1963
 72. Gutierrez de Ferro MI, Ruiz de Valladares RE, Benito de Cardenas IL. Recuperación de veillonellas a partir de saliva. Rev Argent Microbiol 2005, 37(1):22-25
 73. Delwiche EA, Pestka JJ, Tortorello ML. The veillonellae: gram-negative cocci with a unique physiology. Annu Rev Microbiol 1985, 39: 175-193
 74. Minah GE, Lovekin GB, Finney JP. Sucrose-induced ecological response of experimental dental plaques from caries-free and caries-susceptible human volunteers. Infect Immun 1981, 34: 662-675
 75. Mikx FHM, van der Hoeven JS, Konig KG, Plasschaert AJM, Guggenheim B. Establishment of

- defined microbial ecosystems in germ-free rats. I. The effect of the interaction of *Streptococcus mutans* or *Streptococcus sanguis* with *Veillonella alcalescens* on plaque formation and caries activity. *Caries Res* 1972, 6:211-223
76. Noorda WD, DJ Purdell-Lewis, AM van Montfort, 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
 77. Li Y, Ge Y, Saxena D, Caufield PW. Genetic Profiling of the Oral Microbiota Associated with Severe Early- Childhood Caries. *J of Clin Microbiol* 2007, 45(1): 81-87
 78. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *J Clin Microbiol* 2005, 43(11): 5721-5732
 79. Douglas CW, Heath J, Hampton KK, Preston FE. Identity of viridans streptococci isolated from cases of infective endocarditis. *J Med microbial* 1993, 39: 179-182
 80. Carlsson J, Grahnen H, JonssonG, Wikner S. Establishment of *Streptococcus sanguis* in the mouths of infants. *Arch Oral Biol* 1970, 15: 1143-1148
 81. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayaque AP. Initial acquisition of mutans streptococci infections in infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res* 1993, 72: 37-45
 82. Caufield PW, Dasanayaque AP, Li Y, Pan Y, Hsu J, Hardin JM. Natural History of *Streptococcus sanguinis* in the Oral Cavity of Infants: Evidence for a Discrete Window of Infectivity. *Infect Immun* 2000, 68(7): 4018-4023