



REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



Tamayo Estebanz, Nuria
Odontopediatra. Máster en Odontopediatría en Hospital San Rafael de Madrid. Profesora de Clínica Infantil en el Grado de Odontología Universidad Alfonso X El Sabio (UAX). Doctorando en Universidad de Alcalá de Henares (UAH).

Gil Valcárcel, Ana María
Odontopediatra. Especialista en Odontología Infantil y Ortodoncia Interceptiva por la Universidad Central de Venezuela (UCV). Profesora de Clínica Infantil en el Grado de Odontología Universidad Alfonso X El Sabio (UAX). Doctorando en Universidad de Alcalá de Henares (UAH).

Martín Vacas, Andrea
Odontopediatra. Especialista en el niño con necesidades especiales Universidad Complutense de Madrid (UCM). Doctora en Odontología UCM. Profesora de Odontopediatría en el Grado de Odontología UAX. Profesora del Máster de Odontopediatría UCM y UAX.

Aragoneses Lamas, Juan Manuel
Decano de la Facultad de Odontología UAX.

Paz Cortés, Marta Macarena
Odontopediatra. Especialista en el niño con necesidades especiales UCM. Doctora en Odontología UCM. Coordinadora de Odontopediatría en el Grado de Odontología UAX. Profesora del Máster de Odontopediatría UCM.

Indexada en / Indexed in:
- IME
- IBESCS
- LATINDEX
- GOOGLE ACADÉMICO

Correspondencia:
Nuria Tamayo Estebanz
C/ Cerro Negro 12 Portal 2 6ºD
28007
Madrid, España
ntamaest@uax.es

Fecha de recepción: 8 de noviembre de 2023.
Fecha de aceptación para su publicación:
26 de diciembre de 2023.

METAGENÓMICA SALIVAL APLICADA EN ODONTOLÓGIA: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tamayo Estebanz N, Gil Valcárcel AM, Martín Vacas A, Aragoneses Lamas JM, Paz Cortés MM.
Metagenómica salival aplicada en Odontología: revisión bibliográfica.
Cient. Dent. 2023; 20; 3; 168-175

RESUMEN

Introducción: la metagenómica es un campo nuevo en el que se persigue obtener secuencias del genoma de los diferentes microorganismos que componen una comunidad, extrayendo y analizando su ADN de forma global. La posibilidad de secuenciar directamente los genomas de microorganismos sin necesidad de cultivarlos abre nuevas opciones que suponen un cambio de rumbo en la microbiología, sobre todo, teniendo en cuenta que en la cavidad oral sólo el 35% han sido identificadas. La microbiota oral humana es la comunidad de microorganismos comensales, simbióticos y patógenos que se encuentran en la cavidad oral. La saliva juega un papel importante en la determinación de su composición y actividad, siendo bien reconocida como un conjunto de marcadores biológicos, que se puede recolectar fácilmente, de forma no invasiva, indolora y no traumática, por lo que podría ser un sustituto de la sangre en el pronóstico y diagnóstico de enfermedades.

Material y método: se realizó una búsqueda bibliográfica en Pubmed de acuerdo con unos criterios de inclusión y exclusión previamente establecidos.

Resultados: fueron seleccionadas un total de 37 referencias bibliográficas entre 2010-2023.

Conclusión: el análisis microbiológico de la saliva es una alternativa fácil y no invasiva. La microbiota salival refleja las alteraciones bacterianas locales que se producen en la microbiota subgingival y supragingival. Por ello resulta interesan-

SALIVARY METAGENOMICS APPLIED IN DENTISTRY: LITERATURE REVIEW

ABSTRACT

Introduction: Metagenomics is a new field in which the aim is to obtain genome sequences of the different microorganisms that make up a community, extracting and analyzing their DNA globally. The possibility of directly sequencing the genomes of microorganism, without the need to cultivate them, opens up new options that represent a change of direction in microbiology, especially considering that only 35% have been identified in the oral cavity. The human oral microbiota is the community of commensal, symbiotic and pathogenic microorganisms found in the oral cavity. Saliva plays an important role in determining its composition and activity, being well recognized as a set of biological markers, which can be easily collected and non-invasive, painless and non-traumatic way, so it could be a substitute for blood in the prognosis and diagnosis of diseases.

Method: A literature search was carried out in Pubmed according to previously established inclusion and exclusion criteria.

Results: A total of 37 bibliographic references were selected between 2010-2023.

Conclusion: Microbiological analysis of saliva is an easy and non-invasive alternative. The salivary microbiota reflects the local bacterial alterations that occur in the subgingival and supragingival microbiota. It is therefore interesting to be

te poder ampliar el conocimiento en el mundo microbiano oral, y poder ayudar a definir con más exactitud la etiología de la caries y periodontitis y así poder avanzar hacia tratamientos preventivos y curativos mucho más eficaces.

PALABRAS CLAVE

Metagenómica salival; Caries; Periodontitis; Enfermedades orales.

able to expand knowledge in the oral microbial world, and to be able to help define more accurately the etiology of caries and periodontitis and thus be able to move towards much more effective preventive and curative treatments.

KEY WORDS

Salivary metagenomics; caries; periodontitis; oral diseases.

INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado que en la microbiota salival existe un conglomerado de especies bacterianas que se desprenden de las superficies orales, siendo la garganta, la lengua y las amígdalas los principales lugares de origen. Suele ser resistente a los cambios ecológicos menores, aunque las perturbaciones prolongadas pueden inducir una disbiosis de la microbiota residente, dando lugar a las dos enfermedades orales principales, la periodontitis y la caries dental¹.

Aunque la cavidad oral es uno de los entornos más ricos en patógenos del cuerpo humano, al nacer, la mayoría de los niños no poseen un microbioma colonizado. Tras la exposición al entorno durante y después del proceso del parto, la colonización de la cavidad oral se produce en un plazo de 8 a 16 horas. En ausencia de dientes, las superficies mucosas que recubren la cavidad oral proporcionan el único entorno para la colonización bacteriana. La erupción de los dientes primarios crea dos nichos más para esta colonización, un hábitat supragingival consistente en una superficie dental de esmalte y un hábitat subgingival compuesto por una superficie dental abiótica, el epitelio de unión y el revestimiento epitelial. Después de aproximadamente 6 años, este entorno estable, cambia con el comienzo de la exfoliación de la dentición temporal, y durante otros 6 años el individuo entra en lo que conocemos como dentición mixta hasta que se establece la dentición permanente². Por lo tanto, la boca, está en continuo cambio de su hábitat, consecuencia además de factores ambientales, la dieta y genética del huésped entre otros³.

La microbiota oral tiene un impacto significativo tanto en la salud oral como en la general. Por ello, se hace indispensable su estudio, ya que cerca de un tercio de las 700 especies bacterianas identificadas de la cavidad oral no han sido cultivadas. Su detección puede hacerse mediante amplificación por PCR y la secuenciación de alto rendimiento de los genes bacterianos del ARNr 16S (16S-HTS) o la secuenciación metagenómica de todo el genoma (NGS)⁴.

La microbiota salival refleja las alteraciones bacterianas locales en la microbiota supra y subgingival¹. La composición de las comunidades microbianas varía en las distintas partes de la cavidad oral, y tanto los cultivos como los métodos moleculares han demostrado que la lengua, los dientes, la mucosa, el paladar y la encía albergan una microbiota distinta⁵. El microbioma de la saliva se desprende de varios nichos en la cavidad oral y parece ser representativo del microbioma oral global⁶.

La saliva alberga una compleja comunidad microbiana. Numerosos estudios han caracterizado la estructura orgánica de la microbiota salival y han revelado una gran diversidad filogenética⁷⁻⁹. Es una alternativa fácil y no invasiva para realizar estudios microbiológicos¹ y se considera actualmente una reserva potencial de marcadores biológicos, que van desde cambios bioquímicos, el ADN, el ARN y las proteínas hasta la estructura de la microbiota¹⁰.

Microbiota salival en enfermedades orales

La caries dental y la enfermedad periodontal son las dos enfermedades infecciosas e inflamatorias más comunes de la cavidad oral. Las etiologías polimicrobianas y las manifestaciones clínicas son muy diferentes en la caries y en las enfermedades periodontales por lo que los investigadores suelen separar dichos procesos. Sin embargo, en clínica, se observa que los pacientes propensos a la caries suelen tener mejores condiciones periodontales, mientras que los periodontales suelen tener menor incidencia de caries. Cultivos *in vitro* revelaron que las bacterias cariogénicas y los patógenos periodontales tenían un efecto antagónico entre sí. Por otra parte, algunos estudios epidemiológicos indican que la caries dental y la periodontitis ocurren simultáneamente¹¹⁻¹³.

Diferentes estudios realizados y basados en la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) han encontrado en la saliva de pacientes con periodontitis; *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Además, existen datos que sugieren que, aunque los periopa-

tógenos se encuentran ocasionalmente fuera de la lengua, el arrastre de bacterias desde la zona subgingival es probablemente el principal lugar de origen de estos patógenos identificados en la saliva. Por ello, los niveles salivales de patógenos periodontales podrían utilizarse como biomarcador de la periodontitis^{1,14,15}. La caries dental, causada principalmente por bacterias, es una enfermedad crónica y progresiva, con una alta incidencia y una amplia distribución¹⁶, es una fuente importante de dolor y deteriora la calidad de vida relacionada con la salud de muchos niños, pudiendo ocasionar infecciones graves y hospitalizaciones. Se ha observado que las bacterias del biofilm dental desempeñan un papel esencial en el inicio y la progresión de la caries. El *Streptococcus mutans* aparece en menos del 1% en la composición del microbioma, se considera el más cariogénico de todos los estreptococos orales. No obstante, puede detectarse en muestras de placa de algunos niños sin caries, mientras que algunos sujetos con caries graves en la primera infancia no tienen ningún *S. mutans* detectable. Estos resultados sugieren que *S. mutans* no es la única bacteria cariogénica y que otras especies bacterianas podrían ser responsables de la iniciación y el desarrollo de la caries¹⁷. Por ejemplo, la presencia y los niveles de *Cándida albicans* en la saliva se ha visto que están fuertemente asociados a la patogénesis de la caries, especialmente en niños, adolescentes y adultos jóvenes¹⁸. Se han encontrado bacterias como *Veillonella*, *Rothia* y *Leptotrichia* en la caries del esmalte, y *Streptococcus Sanguinis*, *Atopobium*, *Schelegelella*, *Pseudoramibacter* y *Lactobacillus* en caries de dentina. Un aspecto revelador de los estudios basados en el ARN es que la composición de las bacterias activas en las lesiones iniciales del esmalte, parece ser diferente de la que se encuentra en lesiones más avanzadas. En lesiones profundas cavitadas de un molar tiene más frecuencia de *Neisseria*, *Lactobacillus*, *Mehasphaera* y *Rothia* y en las zonas no cavitadas de caries de esmalte, hay más cantidad de *Haemophilus* y *Gemella*¹⁹.

El género *Veillonella* está relacionado con el potencial cariogénico¹⁶. El *Lactobacillus* es significativamente más abundante en los grupos afectados por caries, aunque está casi ausente en la saliva, y esto, puede ser debido a que el *Lactobacillus* está más relacionado con la progresión de la caries^{17,20} y es más probable que sea más abundante en las lesiones cariosas pero no en la saliva o en la placa¹⁷.

Streptococcus mutans parece ser el productor de ácido más común en el inicio de la caries, pero *S. mutans* no está presente en todos los niños con caries y cuando se encuentra forma parte de una comunidad microbiana compleja²¹. Es uno de los géneros predominantes en la cavidad oral, y son un grupo muy heterogéneo desde el punto de vista genético²².

Prevotella forma parte de la microbiota oral humana normal y se aíslan frecuentemente asociadas a infecciones orales como periodontitis, caries dental y abscesos²².

La introducción del análisis de la secuencia del ARNr 16S en el estudio de las comunidades microbianas orales no cultivadas, se trata de una tecnología de análisis molecular ventajosa para investigar la diversidad de las bacterias orales y la composición de la comunidad microbiana en las enfermedades orales. La pirosecuenciación del gen ADNr 16S podría ser más favorables para investigar un perfil completo del microbioma oral y descubrir algunas bacterias raras y no cultivadas que podrían estar relacionadas con la caries²³.

MATERIAL Y METODO

Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica mediante el buscador Pubmed seleccionando artículos basados en estudios de metagenómica salival relacionados con caries y periodontitis de los últimos 13 años. Para la búsqueda de artículos se empleó la estrategia avanzada con los operadores boleanos “AND” y “OR”. Las palabras claves fueron: “salivary metagenomic” “salivary metagenomic AND caries” “salivary metagenomic AND periodontitis” “salivary metagenomic AND oral disease”.

Se han incluido en el trabajo de revisión bibliográfica, todos los artículos que cumplieran los criterios de inclusión establecidos: publicaciones en inglés o en español, fecha de publicación en los últimos 13 años, artículos de revisión, de casos y controles, y estudios en humanos, relacionados con la caries y/o enfermedad periodontal. Se excluyeron todos los artículos que no cumplieran con los criterios de inclusión.

RESULTADOS

En una primera búsqueda se encontraron 300 artículos en Pubmed que cumplían con las palabras claves establecidas. La muestra final estuvo compuesta por 37 artículos que cumplían con los criterios de inclusión establecidos (Figura).

Palabras clave	PUBMED			
	Salivary metagenomic	Salivary metagenomic AND caries	Salivary metagenomic AND periodontitis	Salivary metagenomic AND oral disease
Resultados de la búsqueda	173	22	28	77
Artículos incluidos	11	12	9	5

Figura. Resultados de la búsqueda bibliográfica

En la siguiente tabla se presentan de forma sintetizada los hallazgos más relevantes encontrados en las bases de datos, en relación con los resultados de análisis metagenómico

de la saliva asociado a caries y periodontitis. Se muestra el año del estudio, país, tipo de estudio y se enumeran los microorganismos más abundantes que se encontraron (Tabla).

Tabla. Principales resultados de la búsqueda

AUTOR/AÑO	PAÍS/MUESTRA/ TIPO DE ESTUDIO	RESULTADOS	TIPO DE TÉCNICA
Shi Huang, Fang Yang, Xiaowei Zeng ²² 2011	China 6 adultos Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Proteobacterias, Bacteroidetes, Actinobacterias y Fusobacterias GÉNEROS: <i>Streptococcus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Leptotrichia</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Rothia</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Lautropia</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Granulicatella</i>	Pirosecuenciación de los genes bacterianos 16S rDNA
Wim Crielaard, Egija Zaura, Annemarie A Shuller ²⁷ 2011	Holanda 74 niños Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacterias, Actinobacterias, Spirochaetes GÉNEROS: <i>Veillonella</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Carnobacterias</i>	Pirosecuenciación de las regiones V5-V6 del gen bacteriano 16S rRNA
Vladimir Lazarevic, Katrine Whiteson, Nadia Gaia ⁴ 2012	Suiza 32 adultos Estudio transversal	FILOS: Actinobacterias, Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacterias, Spirochaetes	16S-WGS Amplificación con PCR Secuenciación de las regiones V1-V3 del gen bacteriano 16S r-DNA
Erin L. Groos, Clifford J. Beall, Stacey R. Kutsch ²¹ 2012	USA 72 adultos Estudio longitudinal	FILOS: Proteobacterias, Actinobacterias, Bacteroidetes, Firmicutes GÉNEROS: <i>Veillonella</i> , <i>Streptococcus</i>	Secuenciación del gen bacteriano 16S rRNA
Zongxi Ling, Xia Liu, Yuezhu Wang ²⁴ 2012	China 10 adultos/niños Estudio transversal	FILOS: Actinobacterias, Bacteroidetes, Firmicutes, Fusobacterias y Proteobacterias GÉNEROS: <i>Streptococcus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Gemella</i> , <i>Rothia</i> , <i>Granulicatella</i>	Secuenciación de la región V3 del gen bacteriano 16S rRNA Amplificación con PCR
Nur A. Hasan, Brian A. Young, Angela T minard-Smith ²⁸ 2014	USA 2 adultos Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacterias, Proteobacterias GÉNEROS: <i>Streptococcus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Rothia</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Treponema</i>	NGS
Jianye Zhou, Nan Jiang, Shaoguo Wang ¹⁶ 2015	China 20 adultos Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Actinobacterias, Bacteroidetes, Fusobacteria, Spirochaetes, Cianobacterias GÉNEROS: <i>Veillonella</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Olsonella</i> , <i>Parascardovia</i> , <i>Scardovia</i>	Secuenciación de la región V4 del gen bacteriano 16S rRNA Amplificación con PCR
Fang Yang, Kang Ning, Xiaowei Zeng ⁷ 2016	China 4 adultos Estudio transversal	FILOS: Proteobacterias, Bacteroidetes, Firmicutes GÉNEROS: <i>Neisseria</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Streptococcus</i>	Secuenciación total DNA
Shan Jiang, Xiali Gao, Lijian Jin ¹⁷ 2016	China 40 niños Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacterias, Actinobacterias, Fusobacterias GÉNEROS: <i>Lactobacillus</i> , <i>Scardovia</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Rothia</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Leptotrichia</i>	Secuenciación de las regiones V3-V4 del gen bacteriano 16S rRNA
Daniel Belstrom, Florentin Constancias, Yang Liu ²⁹ 2017	Dinamarca 30 adultos Estudio transversal	FILOS: Bacteroidetes, Firmicutes GÉNEROS: <i>Streptococcus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Porphyromonas</i>	Amplificación con PCR
Linda Eriksson, Pernilla Lif Holgerson ³⁰ 2017	Suecia 73 adultos Estudio longitudinal	FILOS: Firmicutes, Actinobacterias, Bacteroidetes, Fusobacterias, Proteobacterias GÉNEROS: <i>Actinomyces</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Leptotrichia</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Rothia</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Veillonella</i>	Secuenciación de las regiones V3-V4 del gen bacteriano 16S rDNA Secuenciación de las regiones V1-V8 del gen bacteriano 16S rDNA

Bong-Soo Kim, Dong-Hun Han, Ho Lee ³¹ 2018	Korea 153 niños Estudio longitudinal	FILOS: Firmicutes, Actinobacterias, Proteobacterias, Fusobacterias. GÉNEROS: <i>Streptococcus, Rothia, Prevotella, Actinomyces, Leptotrichia, Atopobium</i>	Secuenciación del gen bacteriano 16S rDNA
Lei Xu, Xi Chen, Yuan Wang, Wen Jiang ³ 2018	China 23 adultos Estudio longitudinal	FILOS: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacterias, Actinobacterias, Fusobacterias GÉNEROS: <i>Prevotella, Neisseria, Veillonella, Streptococcus, Rothia, Haemophilus, Porphyromonas, Leptotrichia</i>	Secuenciación de las regiones V3-V4 del gen bacteriano 16S rRNA Amplificación con PCR
Ce Zhu, Chao Yuan, Shuang Ao ²⁵ 2018	China 28 niños Estudio transversal y longitudinal	FILOS: Firmicutes, Proteobacterias, Bacteroidetes, Fusobacterias GÉNEROS: <i>Neisseria, Streptococcus, Prevotella, Haemophilus, Rothia, Lautropia, Leptotrichia, Veillonella, Actinomyces, Porphyromonas</i>	Secuenciación de las regiones V3-V4 del gen bacteriano 16S rDNA Amplificación con PCR
J. Xiao, A. Gries, R.C. Faustoferrri ¹⁸ 2018	USA 73 niños/adultos Estudio transversal	FILOS: Fusobacterias, Bacteroidetes, Firmicutes GÉNEROS: <i>Streptococcus, Veillonella, Actinomyces, Selenomonas, Leptotrichia, Prevotella, Kingella, Lactobacillus, Atopobium</i>	Secuenciación del gen bacteriano 16S rRNA
A. Simon-Soro, A. Sheriff, S. Sadique ³² 2018	Reino Unido 33 niños Estudio longitudinal	FILOS: Firmicutes, Proteobacterias, Bacteroidetes, Actinobacterias GÉNEROS: <i>Streptococcus, Gemella, Granulicatella, Neisseria, Haemophilus, Porphyromonas, Abiotrophia, Prevotella, Rothia, Lactobacillus</i>	Pirosecuenciación del gen bacteriano 16S rRNA
Matthew R. Mason, Stephanie Chambers, Shareef M. D ² 2018	USA 143 niños/adultos Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Fusobacterias, Proteobacterias, Bacteroidetes GÉNEROS: <i>Streptococcus, Veillonella, Gemella, Fusobacterium, Kingella, Prevotella, Pophyromonas, Actinomyces, Haemophilus</i>	Secuenciación del gen bacteriano 16S rRNA
Elimear Hurley, Maurice P.J. Barret, Martin Kinirons ²⁰ 2019	Irlanda 138 niños Estudio transversal	FILOS: Actinobacterias, Firmicutes, Fusobacterias, Bacteroidetes, Proteobacterias GÉNEROS: <i>Bifidobacteria, Streptococcus, Corynebacterias, Leptotrichia, Porphyromonas, Flavobacterias, Neisseria, Lactobacillus, Prevotella, Treponema, Haemophilus</i>	Secuenciación del gen bacteriano 16S rRNA
Wang Chen, Qian Jiang, Guowei Yan, Deqin Yang ²³ 2020	China 80 adultos Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacterias, Proteobacterias, Actinobacterias GÉNEROS: <i>Streptococcus, Leptotrichia, Prevotella, Neisseria, Porphyromonas, Fusobacterium, Capnocytophaga, Veillonella, Actinomyces, Gemella, Derxia</i>	Pirosecuenciación del gen bacteriano 16S rRNA Amplificación con PCR
Boyang Sun, Bingyao Liu, Xiaojiao Gao ²⁶ 2021	China 18 adultos Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Proteobacterias, Actinobacterias, Bacteroidetes, Fusobacterias GÉNEROS: <i>Streptococcus, Actinomyces, Prevotella, Capnocytophaga, Veillonella, Rothia, Porphyromonas</i>	Amplificación con PCR Secuenciación del gen bacteriano 16S rRNA
Cong Shi, Liting Cai, Zhe Xun ¹¹ 2021	China 124 adultos Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Proteobacterias, Actinobacterias, Bacteroidetes, Fusobacterias GÉNEROS: <i>Cyanobacterias, Lactobacillus, Oribacterium, Kingella, Porphyromonas, Bifidobacterium, Scardovia, Selenomonas, Parvimonas, Lautropia, Campylobacter, Treponema</i>	Aislamiento completo de DNA Amplificación con PCR Secuenciación del gen bacteriano 16S rRNA
Adelina S. Plachokova, Sergio Andreu-Sanchez ³³ 2021	Holanda 25 adultos Estudio transversal	FILOS: Bacteroidetes, Actinobacterias, Proteobacterias GÉNEROS: <i>Porphyromonas, Eubacterium, Corynebacterium, Parvimonas, Propiobacterium</i>	Metagenomic shotgun sequencing
Yeon-Tae Kim, Jinuk Jeong, Seyoung Mun ³⁴ 2022	Korea 20 adultos Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Proteobacterias, Bacteroidetes, Actinobacterias, Fusobacterias GÉNEROS: <i>Streptococcus, Porphyromonas, Selenomonas, Treponema, Haemophilus</i>	Secuenciación de las regiones V3-V4 del gen bacteriano 16S rRNA
Feyza Gül, Sukriye Karadayi, Zuhail Yurdabakan ³⁵ 2022	Turquia 10 adultos Estudio transversal	FILOS: Firmicutes, Proteobacterias, Bacteroidetes, Fusobacterias GÉNEROS: <i>Streptococcus, Veillonella, Haemophilus, Gemella, Neisseria, Prevotella, Campylobacter, Oribacterium, Eubacterium</i>	Secuenciación de las regiones V1-V9 del gen bacteriano 16S rRNA

DISCUSIÓN

La mayoría de los estudios que se revisaron están realizados en China^{3,7,11,16,17,22-26}. Este país tiene un estilo de vida, una dieta y un ocio muy diferente al resto del mundo, y las comunidades microbianas, se ven muy influenciadas por factores externos, así como, por factores del huésped y el uso de antibióticos²⁶.

Se observaron diferencias en la microbiota salival entre adultos estadounidenses sanos y adultos chinos sanos, que podría deberse a diferentes genotipos del huésped²⁶.

Los resultados de un estudio realizado en China, en 2015, ente sujetos sanos y sujetos con caries, no encuentran diferencias significativas en la diversidad microbiana¹⁶.

Las proporciones de los filos pueden diferir en estos estudios, sin embargo, los filos más comunes en la saliva son relativamente frecuentes. Según algunos estudios de determinación de la comunidad bacteriana basados en el gen16S RNAr, se ha informado que Firmicutes, Proteobacterias, Bacteroidetes, Actinobacterias y Fusobacteria, forman parte sistemáticamente de la microbiota oral dominante en presencia y ausencia de patología^{4,11,16,17,22-35}.

Wang Chen y cols. observaron que estas comunidades bacterianas dominantes a nivel de filo y género eran similares en la muestra sin caries y con caries activa, y simplemente la abundancia relativa era diferente²³. Resultados similares refieren en su estudio Shan Jiang y cols., que observaron una diversidad filogenética notablemente alta en grupo de niños con caries y sin caries, y además mostraron un nivel de diversidad filogenética en ambos grupos¹⁷. En caries dental y enfermedad periodontal se produce un desequilibrio en el ecosistema oral que puede llevar a una disminución de la diversidad bacteriana, disminuyendo de aproximadamente 700 especies a alrededor de 200-300¹⁹. Yeon-Tae Kim y cols. también observaron que la mucosa bucal y la zona subgingival, estaban ocupadas principalmente por estos 5 filos significativos. Los Firmicutes mostraron la mayor proporción en todos los grupos, excepto en las muestras de placa supragingival del grupo de los sanos. En el grupo de periodontitis se observaron con mayor frecuencia Bacteroidetes y Synergistota en muestras subgingivales, las muestras supragingivales presentaban proporciones más elevadas de Proteobacterias y Actinobacterias. Se demostró que con enfermedad periodontal la diversidad bacteriana es mayor en saliva y en la zona subgingival que en la supragingival³³. Shi Huang y cols. mostraron que las muestras de saliva y placa representaban microbiomas distintos en la cavidad oral. Independientemente del estado de la enfermedad, la microbiota salival se agrupó de forma distinta a la microbiota de la placa. Esto refleja probablemente las diferentes condiciones ambientales que caracterizan ambos hábitats. La microbiota de la placa reside en

biopelículas en la superficie del esmalte dental y está determinado por la composición de la dieta, las prácticas de higiene bucal y las interacciones microbianas dentro de la biopelícula, y entre los microorganismos y las células epiteliales del huésped. El hábitat salival está determinado por el flujo de ingesta de alimentos, la microbiota transitoria o las mucinas entre otros. Encontraron que Fusobacteria y TM7 eran los dos filos más abundantes asociados a gingivitis, mientras que Actinobacterias y Bacteroidetes menos abundantes asociados a la gingivitis²².

Con respecto a la caries los estudios han identificado *Bifidobacterium*, *Veillonella*, *Granulicatella*, *Scardovia*, *Fusobacterium*, *Prevotella* y *Actinomyces* de manera abundante en la microbiota de sujetos con caries. Los métodos moleculares han demostrado que se subestiman las proporciones de determinados filos, como las Actinobacterias¹⁷. El género *Scardovia*, en concreto la bacteria *Scardovia wiggsiae*, y recientemente reconocida como bacteria cariogénica implicada en estadios avanzados de la caries²⁰, se detectó significativamente más abundante en el grupo afectado por caries¹⁷.

Elimear Hurley y cols. encontraron en su estudio, que la diversidad de la microbiota dentinaria de la caries era menor y diferente que la microbiota de la saliva de sujetos con caries y sin caries. Existían claras diferencias de composición entre todos los grupos, desde el filo a las especies. Los Firmicutes dominaron la microbiota dentinaria de la caries, las Proteobacterias dominaron la microbiota salival de caries y no caries, y los géneros que dominaron la microbiota dentinaria de la caries fueron *Neisseria*, *Streptococcus* y *Prevotella*²⁰.

También observaron un aumento de *Prevotella* en un estudio de caries activa Yang y cols. y según los hallazgos del estudio de Feyza Güll y cols. se observó que los índices de abundancia de *Prevotella* tras tratamiento disminuyeron. Bacteroidetes conocidos como un importante patógeno clínico, también se asociaron a la mala salud bucodental en el presente estudio, detectándose un nivel significativamente mayor en las muestras de después el tratamiento que en las de antes. También las bacterias *Capnocytophaga* que en general se sabe que forman parte de la flora bucal normal, disminuyeron de manera significativa tras el tratamiento cariioso³⁴.

Ce Zhu y cols. en su estudio dedujeron que la mayor abundancia de *Fusobacterium*, *Leptotrichia* y *Capnocytophaga*, así como la menor abundancia de *Prevotella*, eran indicadores de la recurrencia de la caries de la infancia. A diferencia de otros estudios, como el mencionado anteriormente, la baja abundancia de *Prevotella* favoreció la recurrencia de caries en la infancia²⁵.

La presencia de *Cándida Albicans* se asoció con un enriquecimiento de una comunidad bacteriana con una mayor abundancia de *Streptococcus* y ciertas especies de *Lacto-*

bacillus, *Veillonella* y *Prevotella*, así como a niveles reducidos de *Actinomyces*. Este estudio de J. Xiao y cols. subraya la posible influencia de *C. albicans* en el bacterioma oral, ya que los hongos parecen aumentar la abundancia de estas bacterias asociadas a la caries¹⁸.

El microbioma salival de los niños de 3 años ya es complejo y madura con la edad, en la pubertad sigue siendo diferente del microbioma adulto. Al igual que en publicaciones anteriores, el microbioma oral es relativamente estable, a pesar de los importantes cambios biológicos que se producen durante la erupción de los dientes. Se observaron algunas diferencias, siendo la más significativa entre la dentición temporal y el resto de etapas. Los niños más pequeños tenían bacterias que suelen estar asociadas a una microbiota oral sana en proporciones relativamente más altas que en niños mayores como *Pseudomonas*, *Moraxella* y *Enterobacteria*. Se confirma, por tanto, la maduración de la composición microbiana detectando un aumento de las proporciones de Bacteroidetes, Spirochaetes y TM7 con el aumento de la edad. Además de la transmisión microbiana, los factores genéticos del huésped pueden influir en las proporciones de ciertas especies de individuos genéticamente emparentados, como se ha observado en la mayor similitud de la microbiota de los gemelos, aunque este estudio no demostró mayor similitud entre los perfiles microbianos de hermanos que entre individuos no emparentados²⁷. Bong-Soo Kim y cols. también determinaron en su estudio que las proporciones de Proteobacteria, Fusobacteria y TM7 parecían aumentar con la edad y aunque se detectaron algunas diferencias entre la composición de la microbiota entre los grupos de caries y sin caries, el perfil general de la microbiota fue similar³¹.

Cong Shi y cols. describieron en su estudio que tanto las cargas bacterianas totales como la riqueza microbiana global de la saliva del grupo con periodontitis eran superiores a las del grupo sano, lo que sugiere que la periodontitis se caracteriza por un aumento de la complejidad del microbioma oral¹¹. Según Adelina S. Plachokova y cols. la composición microbiana sí que varía entre enfermedad periodontal leve y grave en el microbioma subgingival y en menor grado en la saliva, pero en ambas, hay mucha diversidad y riqueza de especies³³.

Belstrom y cols. y Cong Shi y cols. encontraron una diferencia estructural del microbioma salival de los grupos de caries activa, periodontitis y sanos. En caries disminuye el número de especies bacterianas y en enfermedades periodontales aumenta, con respecto a los sanos. Belstrom informó que pacientes con periodontitis, caries dental y controles sanos tenían un perfil bacteriano salival único y diferente entre sí. El grupo de caries presentaba una mayor abundancia de *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Oribacterium*, *Megaspharera* y *Kingella*. El grupo de periodontitis presentaba una mayor abundancia de *Bifidobacterium*,

Porphyromonas y *Peptostreptococcus*. El mayor número de *Neisseria* y *Haemophilus* en el grupo sano sugiere un papel protector contra la caries y la periodontitis^{11,36}. El análisis de correlación mostró que el enriquecimiento de *Lactobacillus* en la caries se correlacionaba negativamente con la abundancia de *Porphyromonas* y *Peptostreptococcus* y positivamente con la abundancia de *Bifidobacterium* en la periodontitis¹¹.

Yeon-Tae Kin y cols. reportaron que las *Porphyromonas gingivalis* predominaron en el grupo de pacientes con periodontitis, así como abundancia de *Treponema denticola* y *Treponema forsythia*. Esto coincide con estudios anteriores como el de Chen y cols., lo que sugiere que estas cepas juegan un importante papel en la periodontitis. Aunque las muestras de saliva presentaban valores de medición inferiores a las muestras subgingivales, mostraron un patrón similar³⁴.

En varios estudios longitudinales se ha demostrado que existen cambios en la composición bacteriana que se manifiesta a lo largo del tiempo. Los datos sugieren que la maduración normal del biofilm oral influye en la composición microbiana y viceversa^{32,36,37}.

CONCLUSIÓN

El análisis microbiológico de la saliva es una alternativa fácil y no invasiva, ya que está demostrado, que el microbioma salival refleja las alteraciones bacterianas locales que se producen en la microbiota subgingival y supragingival.

Firmicutes, Proteobacterias. Bacteroidetes, Actinobacterias y Fusobacterias, forman parte sistemáticamente de la microbiota oral dominante.

Bifidobacterium, *Veillonella*, *Granulicatella*, *Scardovia*, *Fusobacterium*, *Prevotella* y *Actinomyces*, aparecen con mayor frecuencia en pacientes con caries, así como también *Keisseria*, *Streptococcus* y *Prevotella*.

Bifidobacterium, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus* y *Treponemas*, se encuentran con mayor frecuencia en enfermedades periodontales.

Neisseria y *Haemophilus*, se encuentran aumentados en pacientes sanos, por lo que sugiere un papel protector frente a la caries.

Por ello resulta interesante poder ampliar el conocimiento en el mundo microbiano oral, y poder ayudar a definir con más exactitud la etiología de la caries y periodontitis y así poder avanzar hacia tratamientos preventivos y curativos mucho más eficaces. Mediante la aplicación de la metagenómica y la reconstrucción de las vías metabólicas, será posible diseñar terapias para la prevención de las enfermedades orales.



BIBLIOGRAFÍA

1. Belstrøm D. The salivary microbiota in health and disease. *J Oral Microbiol.* 2020;12(1)
2. Mason MR, Chambers S, Dabdoub SM y cols. Characterizing oral microbial communities across dentition states and colonization niches. *Microbiome.* 2018;6(1):67.
3. Xu L, Chen X, Wang Y y cols. Dynamic alterations in salivary microbiota related to dental caries and age in preschool children with deciduous dentition: A 2-year follow-up study. *Front Physiol.* 2018;9:342.
4. Lazarevic V, Whiteson K, Gaia N y cols. Analysis of the salivary microbiome using culture-independent techniques. *J Clin Bioinforma.* 2012;2:4.
5. Simón-Soro A, Tomás I, Cabrera-Rubio R y cols. Microbial geography of the oral cavity. *J Dent Res.* 2013;92(7):616-21.
6. Yamashita Y, Takeshita T. The oral microbiome and human health. *J Oral Sci.* 2017;59(2):201-206.
7. Yang F, Ning K, Zeng X y cols. Characterization of saliva microbiota's functional feature based on metagenomic sequencing. *Springerplus.* 2016;5(1):2098.
8. Zarco MF, Vess TJ, Ginsburg GS. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Dis.* 2012;18(2):109-20.
9. Yang F, Zeng X, Ning K y cols. Saliva microbiomes distinguish caries-active from healthy human populations. *ISME J.* 2012;6(1):1-10.
10. Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY y cols. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci.* 2016;8(3):133-7.
11. Shi C, Cai L, Xun Z y cols. Metagenomic analysis of the salivary microbiota in patients with caries, periodontitis and comorbid diseases. *J Dent Sci.* 2021; 16(4):1264-1273.
12. Mattila PT, Niskanen MC, Vehkalahti MM, Nordblad A, Knuutila ML. Prevalence and simultaneous occurrence of periodontitis and dental caries. *J Clin Periodontol.* 2010;37(11):962-7.
13. Iwano Y, Sugano N, Matsumoto K y cols. Salivary microbial levels in relation to periodontal status and caries development. *J Periodontal Res.* 2010; 45(2):165-9.
14. Ennibi OK, Claesson R, Akkaoui S y cols. High salivary levels of JP2 genotype of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* is associated with clinical attachment loss in Moroccan adolescents. *Clin Exp Dent Res.* 2019;5(1):44-51.
15. Chigasaki O, Takeuchi Y, Aoki A y cols. A cross-sectional study on the periodontal status and prevalence of red complex periodontal pathogens in a Japanese population. *J Oral Sci.* 2018; 60(2):293-303.
16. Zhou J, Jiang N, Wang S y cols. Exploration of human salivary microbiomes--insights into the novel characteristics of microbial community structure in caries and caries-free subjects. *PLoS One.* 2016;11(1):e014703
17. Jiang S, Gao X, Jin L, Lo EC. Salivary microbiome diversity in caries-free and caries-affected children. *Int J Mol Sci.* 2016;17(12):1978.
18. Xiao J, Grier A, Faustoferri RC y cols. Association between oral candida and bacteriome in children with severe ECC. *J Dent Res.* 2018;97(13):1468-1476.
19. Simón-Soro A, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends Microbiol.* 2015;23(2):76-82.
20. Hurley E, Barrett MPJ, Kinirons M y cols. Comparison of the salivary and dental microbiome of children with severe-early childhood caries to the salivary microbiome of caries-free children. *BMC Oral Health.* 2019;19(1):13.
21. Gross EL, Beall CJ, Kutsch SR y cols. Beyond *Streptococcus mutans*: dental caries onset linked to multiple species by 16S rRNA community analysis. *PLoS One.* 2012;7(10):e47722.
22. Huang S, Yang F, Zeng X y cols. Preliminary characterization of the oral microbiota of Chinese adults with and without gingivitis. *BMC Oral Health.* 2011;11:33.
23. Chen W, Jiang Q, Yan G, Yang D. The oral microbiome and salivary proteins influence caries in children aged 6 to 8 years. *BMC Oral Health.* 2020;20(1):295.
24. Ling Z, Liu X, Wang Y, Li L, Xiang C. P. Pyrosequencing analysis of the salivary microbiota of healthy Chinese children and adults. *Microb Ecol.* 2013;65(2):487-95.
25. Zhu C, Yuan C, Ao S y cols. The predictive potentiality of salivary microbiome for the recurrence of early childhood caries. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;8:423.
26. Sun B, Liu B, Gao X y cols. Metagenomic analysis of saliva reveals disease-associated microbiotas in patients with periodontitis and crohn's disease-associated periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:719411.
27. Crielaard W, Zaura E, Schuller AA y cols. Exploring the oral microbiota of children at various developmental stages of their dentition in the relation to their oral health. *BMC Med Genomics.* 2011;4:22.
28. Hasan NA, Young BA, Minard-Smith AT y cols. Microbial community profiling of human saliva using shotgun metagenomic sequencing. *PLoS One.* 2014;9(5):e97699.
29. Belstrøm D, Constancias F, Liu Y y cols. Metagenomic and metatranscriptomic analysis of saliva reveals disease-associated microbiota in patients with periodontitis and dental caries. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2017;3:23.
30. Eriksson L, Lif Holgerson P, Johansson I. Saliva and tooth biofilm bacterial microbiota in adolescents in a low caries community. *Sci Rep.* 2017;19;7(1):5861.
31. Kim BS, Han DH, Lee H, Oh B. Association of salivary microbiota with dental caries incidence with dentine involvement after 4 years. *J Microbiol Biotechnol.* 2018;28(3):454-464.
32. Simon-Soro A, Sherriff A, Sadique S y cols. Combined analysis of the salivary microbiome and host defence peptides predicts dental disease. *Sci Rep.* 2018;8(1):1484.
33. Plachokova AS, Andreu-Sánchez S, Noz MP, Fu J, Riksen NP. Oral microbiome in relation to periodontitis severity and systemic inflammation. *Int J Mol Sci.* 2021;22(11):5876.
34. Kim YT, Jeong J, Mun S y cols. Comparison of the oral microbial composition between healthy individuals and periodontitis patients in different oral sampling sites using 16S metagenome profiling. *J Periodontal Implant Sci.* 2022;52(5):394-410.
35. Gül F, Karadayı S, Yurdabakan Z, Özbek T, Karadayı B. Investigating changes in salivary microbiota due to dental treatment: A metagenomic analysis study for forensic purposes. *Forensic Sci Int.* 2022;340:111447.
36. Lif Holgerson P, Öhman C, Rönnlund A, Johansson I. Maturation of oral microbiota in children with or without dental caries. *PLoS One.* 2015;10(5).
37. Xu H, Hao W, Zhou Q y cols. Plaque bacterial microbiome diversity in children younger than 30 months with or without caries prior to eruption of second primary molars. *PLoS One.* 2014;9(2):e89269.