



MICROBIOLOGÍA ORAL

Diversidad de bacterias cariogénicas a través del microbioma y la metagenómica oral. Artículo de revisión

Raúl Eduardo Rivera Quiroga

Biólogo, Magister en ciencias Biomédicas, estudiante de Doctorado en Ciencias Biomédicas.

Profesor Facultad de Odontología. Universidad Antonio Nariño, sede Circasia.

rriveraquiroga@uan.edu.co

Resumen

Desde el aislamiento en 1920 de *Streptococcus mutans* a partir de lesiones cariosas, además de sus características bioquímicas y microbiológicas, ha sido catalogado como el agente etiológico de esta patología oral. Sin embargo, el desarrollo de nuevas tecnologías de análisis y secuenciación de ADN y la disponibilidad y fácil acceso a diferentes bases de datos que albergan esta información, han abierto una nueva mirada hacia lo que se conoce actualmente como el microbioma oral humano, el cual se ha estudiado en la búsqueda y caracterización de la diversidad microbiana en individuos con y sin caries, evidenciando la existencia de otras bacterianas poco estudiadas como *Veillonella* y *Bifidobacterium*, que pueden ser patógenos de gran importancia en la progresión de la caries dental. Por tal motivo, esta corta revisión pretende brindar una mirada general y actual de la diversidad de bacterias cariogénicas identificadas mediante al análisis del microbioma oral.

Palabras clave: Caries dental, Microbioma oral, Metagenómica oral.

Introducción

La caries dental es considerada una enfermedad de alta prevalencia en humanos, afecta entre el 80 y 90% de la población mundial y entre un 60 y 90 % de los niños, pero a pesar del desarrollo sigue sin tratarse debido a diversos factores, tales como un inadecuado o limitado acceso a los servicios de atención de la salud oral, entre otros. En general, las tasas son más altas en los países de ingresos medios, donde el consumo de azúcar va en aumento, mientras que el acceso a la prevención y la atención es bajo (1). En relación a la patobiología de esta enfermedad, se conoce que es generada por bacterias con capacidad de producir ácidos como producto de su metabolismo a través de la fermentación de azúcares en un huésped susceptible,

factores interrelacionados por primera vez por Paul Keyes y modificado por Newbrun quien adicionó el factor tiempo a este modelo (2).

La bacteria acidogénica considerada como el principal agente etiológico de la caries es el *Streptococcus mutans* (3) debido a su habilidad de adherirse a la superficie dental mediante la producción de polisacáridos a partir de la sacarosa, además de fermentar esta sacarosa y otros azúcares a ácidos que atacan el esmalte dental (4). Debido a la representatividad de la placa dental como un ecosistema microbiano en el cual están involucradas otra gran cantidad de bacterias no-*mutans*, se han caracterizado estas comunidades gracias a la utilización de herramientas de biología molecular, permitiendo desarrollar el estudio del microbioma oral humano para la identificación de bacterias cultivables y no cultivables a través de la secuenciación de ADN (5,6), lo que ha brindado un conocimiento más profundo de la diversidad de bacterias que constituyen la microflora oral y aquellas de están relacionadas con la presencia de caries y otras enfermedades de origen dental. Además, se ha mejorado en el conocimiento acerca de los factores de virulencia de estos microorganismos. Por lo anterior, esta corta revisión pretende brindar una mirada general y actual de la diversidad de bacterias cariogénicas identificadas mediante al análisis del microbioma oral.

1. Herramientas moleculares para el estudio del microbioma oral

Actualmente los métodos y técnicas moleculares disponibles para el análisis y secuenciación de ADN han llevado a la obtención de una gran cantidad de datos genómicos que permiten el conocimiento y estudio de los microorganismos, además de su relación con el hospedero humano; estos métodos de análisis de microbiota humana iniciaron con



métodos convencionales a partir del cultivo y la observación directa de los microorganismos, pero actualmente están siendo más utilizados métodos genéticos o moleculares basados en la clonación, amplificación y secuenciación de ADN (7). Estos han llevado a la creación de bases que almacenan datos de secuencias de nucleótidos, proteínas, estructuras de proteínas, genomas, bibliografía, taxonomía, metabolismo, factores de transcripción, entre otros; siendo las principales bases de datos de secuencias de nucleótidos el NCBI, *National Center for Biotechnology Information* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (EEUU); el ENA, *The European Nucleotide Archive* (<http://www.ebi.ac.uk/ena/>) (EUROPA) y el DDCJ, *DNA Data Bank of Japan* (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>) (Japón). El estudio de una gran cantidad de datos de secuencias y el interés en su análisis llevo a las ciencias odontológicas, convirtiendo el microbioma oral humano en una de las microfloras humanas mejor estudiadas, por lo cual en 2010 se creó "The Human Oral Microbiome Database (HOMD)" (<http://www.homd.org/>), una base de datos que recopila toda la información genética y taxonómica de las bacterias orales caracterizadas por secuenciación de ADN (6). Diferentes técnicas de biología molecular han sido utilizadas para la identificación y caracterización del microbioma oral, por ejemplo el Polimorfismo de Longitud en Fragmentos de Restricción (RFLP amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RPAD), la electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (DGGE), la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR), los microarreglos y la técnica de hibridización Checkerboard. Sin embargo, recientemente se han desarrollado tecnologías de secuenciación de alto rendimiento o "high throughput sequencing", que han abierto una nueva era en la exploración de la biodiversidad de las comunidades de bacterias orales y que consiste en la obtención de librerías de amplicones generados por la amplificación universal de porciones del gen 16s de ARN ribosomal (16s ARNr), un gen conservado en todas las bacterias que presenta pequeños sitios de variación que son utilizados para la identificación y clasificación de los diferentes géneros bacterianos (8), las secuencias obtenidas se alinean y se agrupan por similitud en unidades taxonómicas operacionales (OTUs) (9), utilizando diferentes programas como *Ribosomal Database Project* (RDP) para la selección y clasificación de las secuencias 16s ARNr, *Metagenome Analyzer* (MEGAN) para determinar la abundancia de microorganismos, MetaCV para la identificación de grupos funcionales y taxonómicos y los

OTUs obtenidos se analizan con algunos servidores como *Metagenomics Rapid Annotation using Subsystem Technology* (MG-RAST) (10). Esta secuencia de pasos metodológicos ha sido utilizada en los estudios de microbioma oral (figura 1); entendiéndose por microbioma como el conjunto de genes y genomas de la microbiota al igual que sus productos en el huésped, y que dependiendo de la información de que pretenda obtener del estudio del microbioma oral se puede analizar la microbiota que se enfoca principalmente el estudio de genes de ARN ribosomal para la identificación taxonómica de los microorganismos presentes en la cavidad oral; o por otro lado se puede estudiar el metagenoma oral en el cual se incluye el estudio de los genes y genomas de la microbiota, incluyendo plásmidos, destacando el potencial genético de la población (11).

2. Bacterias cariogénicas identificadas por análisis de la microbiota oral

Hace más de una década los avances de técnicas moleculares han despertado el interés por conocer la diversidad genética y fisiológica de la microbiota que está asociada a los diferentes nichos ecológicos que se encuentran en el cuerpo humano (12). El microbioma oral está constituido por más de 600 taxa o grupos taxonómicos y aproximadamente el 65.6% de estos ya han sido cultivados, lo que es llamativo debido a que en algunos nichos naturales menos del 1% han podido ser cultivados; los 6 principales *Phylum* bacterianos de la cavidad oral que constituyen cerca del 96% del microbioma son *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes*, y *Fusobacteria* y el restante 4% *Euryarchaeota*, *Chlamydia*, *Chloroflexi*, SR1, *Synergistetes*, *Tenericutes* y TM7 (5). Dentro de la microbiota asociada al desarrollo de procesos cariogénicos, el agente etiológico más relacionado es el *Streptococcus mutans*, el cual ha sido la bacteria más frecuentemente aislada en pacientes con caries y del que se han encontrado 4 serotipos (c/e/f/k) siendo el serotipo C el más frecuente en cavidad oral y el serotipo k uno de los menos frecuentes (menos del 5%) pero que se ha relacionado con enfermedad cardiovascular (13-15). Sin embargo, diferentes estudios basados en la amplificación y secuenciación del 16s ARNr de individuos con caries y sin caries, han determinado que existen otras especies asociadas a esta patología como *Actinomyces gerencseriae*, *Bifidobacterium*, *Veillonella*, *S. salivarius*, *S. constellatus*, *S. parasanguinis*, y *Lactobacillus fermentum*, sugiriendo además que *A. gerencseriae*



y otras especies de *Actinomyces* pueden tener un papel importante en el inicio de la caries y que *Bifidobacterium* puede ser una de las bacterias más importantes en la progresión de la caries debido a que es muy frecuente en lesiones cariosas cavitacionales y profundas (16). También se ha determinado que entre sujetos con caries radicular existe una gran variación de los perfiles de bacterias, Sin embargo predominan *S. mutans*, *Lactobacilli*, *Actinomyces*, *Atopobium*, *Olsenella*, *Pseudoramibacter*, *Propionibacterium*, y *Selenomonas* (17). Estos análisis han permitido relacionar un núcleo bacteriano con pacientes sanos *Delftia acidovorans*, *Bacteroidetes* [G-2] sp., *Lachnospiraceae* [G-3] sp., y *Prevotella intermedia*, al igual que con pacientes con caries radicular siendo la especie más predominante *Lactobacillus crispatus* (18)(figura 2)

Por otro lado, en las cavidades de la dentina de dientes molares se han reportado altas frecuencias de *Neisseria*, *Lactobacillus*, *Megasphaera*, y *Rothia*, mientras en lesiones cariosas no cavitacionales del esmalte pueden predominar *Haemophilus* y *Gemella* (19). Recientemente se realizó un estudio para explorar la composición de la microbiota de la saliva de 2,343 mediante análisis de secuenciación de alto rendimiento del 16s ARN, encontrando 550 OTUs entre los cuales se encuentra especies como *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Granulicatella adiacens*, *Neisseria flavescens*, *Rothia mucilaginosa*, *Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Filifactor alocis* y *Streptococcus mutans*. Adicionalmente, un análisis de regresión múltiple determino que individuos jóvenes, hombres y ciertas condiciones orales actuales de los individuos como presencia de dientes, bolsas periodontales, sangrado gingival, están significativamente asociadas a una mayor diversidad filogenética y por el contrario los individuos mayores, la higiene oral, los dientes perdidos y fumadores están asociados a una menor diversidad (20). Estos resultados además de presentar la diversidad de bacterias encontradas en la cavidad oral, entre las cuales hay bacterias cariogénicas y periodontopatógenas, sugiere una relación con ciertas condiciones específicas de la boca y del paciente como edad y hábitos, sin embargo, para profundizar en el estudio de la microbiología de las enfermedades orales, se ha propuesto que las muestras de saliva no son apropiadas ya que no son representativas de la diversidad bacteriana localizada en los sitios

específicos de la enfermedad, debido a que como se muestra en la figura 3, cuando se analiza la saliva, la placa dental y lesiones cariosas del mismo individuo; la composición microbiana de la lesión del esmalte es predominada por *Veillonella*, *Fusobacterium* y *Porphyromonas*, mientras en la saliva del mismo individuo *Streptococcus*, *Neisseria*, y *Prevotella* son los géneros que se encuentran en mayor proporción y aunque las muestras de placa dental son muy similares en la composición bacteriana a las encontradas en las respectivas lesiones cariosas hay una gran variación en la proporción de los géneros microbianos como una consecuencia de ser un nicho más especializado (19).

Dicha observación de secuencias de ADN, además de profundizar en el conocimiento de la diversidad microbiana, en relación a la búsqueda de las bacterias patogénicas asociadas a enfermedades orales, también ha permitido explorar la posibilidad de que el análisis del microbioma de la saliva sea un potencial indicador diagnóstico de varias enfermedades o si tiene asociación con bacteriemias, enfermedades cardiovasculares o funciones cognitivas, teniendo en cuenta que la cavidad oral puede ser la vía de entrada de muchos agentes infecciosos (14, 21, 22); además de que se ha logrado encontrar nuevas especies que parecen ser un factor protector contra la caries como es el caso del *Streptococcus dentisani* aislado de individuos sin historial de caries, caracterizado a nivel morfológico, bioquímico y molecular y propuesto en el 2014 como un especie nueva, la cual parece tener un efecto sobre la inhibición del crecimiento de *S. mutans* (23).

3. Análisis metagenómico de bacterias cariogénicas

Sin embargo, el análisis metagenómico de comunidades microbianas es un método que potencialmente permite el análisis completo de los genomas encontrados en un nicho determinado, también es utilizado para el análisis de la microbiota (7), asociando algunos géneros bacterianos con la caries como *Dialister*, *Oligotropha*, *Basfia*, *Parvibaculum*, *Syntrophus* o *Treponema* y otros a la ausencia de caries *Neisseria*, *Cardiobacterium*, *Rothia*, *Kingella*, *Aggregatibacter* o *Mannheimia*, encontrando interesante el hecho de que el género *Streptococcus* en el cual se incluye el *S. mutans* no fue relacionado mediante análisis de correspondencia con alguno de los grupos (24); siendo este último hallazgo coherente con otros investigadores los cuales explican que con los da-



tos del metagenoma oral y estudios pioneros de secuenciación de ADN no han amplificado ADN de *S. mutans* en cavidades, sugiriendo que otros géneros bacterianos como *Lactobacillus*, *Actinomyces* o *Biñdobacterium* y algunos poco estudiados como, *Propionibacterium*, *Atopobium* y *Veillonella*, siendo esta última predominante en todas las fases de progresión de la caries y de la cual se ha determinado que produce una mayor cantidad de ácido en presencia de *S. mutans*, lo que ha llevado a pensar en un efecto sinérgico entre estas dos especies. En adición a lo anterior, se ha encontrado que las comunidades bacterianas de individuos que nunca ha sufrido de caries dental poseen una sobrerrepresentación de categorías funcionales como genes para péptidos antimicrobianos y *Quorum sensing*; varias cepas pertenecientes a estas bacterias dominantes en individuos sanos se cultivaron y han demostrado que inhibe el crecimiento de bacterias cariogénicas, lo que sugiere el uso de estas comensales cepas bacterianas como los probióticos para promover la salud oral y prevenir la caries dental (25).



Con el análisis metagenómico se han logrado identificar vías metabólicas específicas y genes asociados a enfermedades orales y a individuos sanos en quienes se han identificado vías que incluyen la biosíntesis de ácidos grasos, metabolismo del aspartato y del glicerol-3-fosfato, que han sido reportados como factores protectores. También se han encontrado genes involucrados en el metabolismo de la homoserina, una molécula de señalización para el *Quorum sensing* que parece estar activa en individuos sanos, genes para la fermentación de ácidos en muestras de caries activas; por tanto desde la metagenómica se sugiere que existen vías metabólicas particulares y genes específicos asociados a las enfermedades orales, pero que requieren más investigaciones para confirmar estas aseveraciones, además de que algunos de estos genes podrían llegar a ser marcadores diagnósticos para análisis clínicos (8). Finalmente, una de las aplicaciones resientes del metagenoma oral se enfoca en las investigaciones del resistoma oral que tiene que ver con la aparición de resistencias a los antibióticos en bacterias comensales y patógenas de la cavidad oral, además de la transferencia horizontal de genes de resistencia, lo cual tiene unas fuertes implicaciones clínicas (26).

Conclusiones

El estudio del microbioma oral ha avanzado significativamente en las últimas décadas gracias al

desarrollo de técnicas moleculares para el estudio de secuencias a ADN, al igual que una importante evolución en las herramientas bioinformáticas para el almacenamiento, procesamiento y análisis de grandes cantidades de datos que han permitido evidenciar la diversidad microbiana que se puede encontrar en la cavidad oral de individuos sanos y que además se ha podido comparar con individuos con caries u otras patologías orales, llevando a la caracterización de los grupos bacterianos asociados a dichas patologías. Por otro lado, se han podido establecer las relaciones que existen en las comunidades microbianas que se albergan en la boca, determinando que existen sinergismos entre algunas bacterias como entre el *S. mutans* y la *Veillonella* o por el contrario pueden establecerse competencias por el nicho ecológico generando que unas bacterias puedan desplazar o inhibir el crecimiento de otras en el caso de *S. dentisani* o algunas bacterias comensales de la boca, sobre *S. mutans*. Finalmente, la importancia de estos hallazgos no se centran solo en determinar la abundancia de los grupos bacterianos establecidos en cavidad oral, también aborda otros contextos en donde el análisis metagenómico es protagonista para la determinación de factores de virulencia, el estudio de genes de resistencia a antimicrobianos y la posible relación de la microbiota oral con otras enfermedades, lo que evidencia la necesidad de seguir con estas investigaciones así como continuar el uso de estas herramientas para el estudio de la microbiología oral humana.

Bibliografía

1. FDI World Dental Federation. Oral Health Worldwide. Report. 2014, pp. 1–24.
2. Anderson, M. "Risk assessment and epidemiology of dental caries: review of the literature". *Pediatr Dent*. 2002; 24(5), pp. 377–385.
3. Loesche, W.J. "Role of Streptococcus mutans in human dental decay". *Microbiol Rev*. 1986; 50 (4), pp. 353–380.
4. Chu, J.; Zhang, T.; He, K. "Cariogenicity features of Streptococcus mutans in presence of rufusoside". *BMC Oral Health* [Internet]. BMC Oral Health; 2016; 16 (1), p. 54. Disponible en: [<http://bmcoralhealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12903-016-0212-1>].
5. Dewhirst, F.E.; Chen, T.; Izard, J.; Paster, B.J.; Tanner, A.C.R.; Yu, W.H. et al. "The human oral microbiome". *J Bacteriol* [Internet]. 2010 Oct [cited 2014 Jul 11]; 192 (19), pp. 5002–5017. Disponible en: [<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2944498&tool=pmcentrez&render-type=abstract>].



6. Chen, T.; Yu, W.H.; Izard, J.; Baranova, O.V.; Lakshmanan, A.; Dewhirst, F.E. "The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information". *Database* (Oxford) [Internet]. 2010 Jan [cited 2015 Aug 28];2010:baq013. Disponible en: [http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2911848&tool=pmcentrez&rendertype=abstract].
7. Kawamura, Y.; Kamiya, Y. "Metagenomic analysis permitting identification of the minority bacterial populations in the oral microbiota". *J Oral Biosci* [Internet]. Elsevier; 2012;54(3):132-7. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/j.job.2012.05.002].
8. Xu, P.; Gunsolley, J. "Application of metagenomics in understanding oral health and disease". *Virulence* [Internet]. 2014; 5 (3), pp. 424-432. Disponible en: [http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3979870&tool=pmcentrez&rendertype=abstract].
9. Cardona-Castro, N. "Cavidad oral a través de la metagenómica". *Tema Revisiones* 2015; 28 (2), pp. 112-118.
10. Wang, J.; Qi, J.; Zhao, H.; He, S.; Zhang, Y.; Wei, S. et al. "Metagenomic sequencing reveals microbiota and its functional potential associated with periodontal disease". *Sci Rep* [Internet]. 2013; 3, p. 1843. Disponible en: [http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3654486&tool=pmcentrez&rendertype=abstract].
11. Whiteside, S.A.; Razvi, H.; Dave, S.; Reid, G.; Burton, J.P. "The microbiome of the urinary tract—a role beyond infection". *Nat Rev Urol* [Internet]. Nature Publishing Group; 2015; 12 (2), pp. 81-90. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2014.361].
12. Turnbaugh, P.J.; Ley, R.E.; Hamady, M.; Fraser-Liggett, C.; Knight, R.; Gordon, J.I. *Ourselves in a changing world*. 2013; 449 (7164), pp. 804-810.
13. Shibata, Y.; Ozaki, K.; Seki, M.; Kawato, T.; Tanaka, H.; Nakano, Y. et al. "Analysis of loci required for determination of serotype antigenicity in *Streptococcus mutans* and its clinical utilization". *J Clin Microbiol*. 2003; 41 (9), pp. 4107-4112.
14. Nakano, K.; Nemoto, H.; Nomura, R.; Homma, H.; Yoshioka, H.; Shudo, Y. et al. "Serotype distribution of *Streptococcus mutans* a pathogen of dental caries in cardiovascular specimens from Japanese patients". *J Med Microbiol*. 2007; 56 (4), pp. 551-556.
15. Nakano, K.; Ooshima, T. *Serotype classification of 2009*, pp. 891-902.
16. Becker, M.R.; Paster, B.J.; Leys, E.J.; Moeschberger, M.L.; Kenyon, S.G.; Galvin, J.L. et al. "Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries". *J Clin Microbiol*. 2002; 40 (3), pp. 1001-109.
17. Preza, D.; Olsen, I.; Aas, J.A.; Willumsen, T.; Grinde, B.; Paster, B.J. "Bacterial profiles of root caries in elderly patients". *J Clin Microbiol*. 2008; 46 (6), pp. 2015-2021.
18. Chen, L.; Qin, B.; Du, M.; Zhong, H.; Xu, Q.; Li, Y, et al. "Extensive description and comparison of human supra-gingival microbiome in root caries and health". *PLoS One*. 2015; 10(2), pp. 1-15.
19. Simón-Soro A, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends Microbiol*. 2015; 23 (2), pp. 76-82.
20. Takeshita, T.; Kageyama, S.; Furuta, M.; Tsuboi, H.; Takeuchi, K.; Shibata, Y. et al. "Bacterial diversity in saliva and oral health-related conditions," *The Hisayama Study. Sci Rep* [Internet]. Nature Publishing Group; 2016;6(November 2015):22164. Disponible en: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26907866] nhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4764907].
21. Lazarevic, V.; Whiteson, K.; Gaïa, N.; Gizard, Y.; Hernández, D.; Farinelli, L. et al. "Analysis of the salivary microbiome using culture-independent techniques". *J Clin Bioinforma* [Internet]. 2012; 2 (1), p. 4. Disponible en: http://www.jclinbioinformatics.com/content/2/1/4
22. Cockburn, A.F.; Dehlin, J.M.; Ngan, T.; Crout, R.; Boskovic, G.; Denvir, J. et al. "High throughput DNA sequencing to detect differences in the subgingival plaque microbiome in elderly subjects with and without dementia". *Investig Genet* [Internet]. 2012; 3 (1), p. 19. Disponible en: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3488532&tool=pmcentrez&rendertype=abstract
23. Camelo-Castillo, A.; Benitez-Paez, A.; Belda-Ferre, P.; Cabrera-Rubio, R.; Mira, A. "Streptococcus dentisani sp. nov., a novel member of the mitis group". *Int J Syst Evol Microbiol* [Internet]. 2014; 64 (Pt 1), pp. 60-65. Disponible en: [http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.054098-0].
24. Alcaraz, L.D.; Belda-Ferre, P.; Cabrera-Rubio, R.; Romero, H.; Simón-Soro, Á.; Pignatelli, M. et al. "Identifying a healthy oral microbiome through metagenomics". *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18 (SUPPL. 4), pp. 54-7.
25. Belda-Ferre P, Alcaraz LD, Cabrera-Rubio R, Romero H, Simón-Soro A, Pignatelli M, et al. The oral metagenome in health and disease. *ISME J* [Internet]. 2012;6(1), pp. 46-56. Disponible en: [http://www.nature.com/doi/10.1038/ismej.2011.85].
26. Sukumar S, Roberts AP, Martin F.E.; Adler, C.J. "Metagenomic Insights into Transferable Antibiotic Resistance in Oral Bacteria". *J Dent Res* [Internet]. 2016; Disponible en: [http://jdr.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/0022034516648944].

ANEXOS:

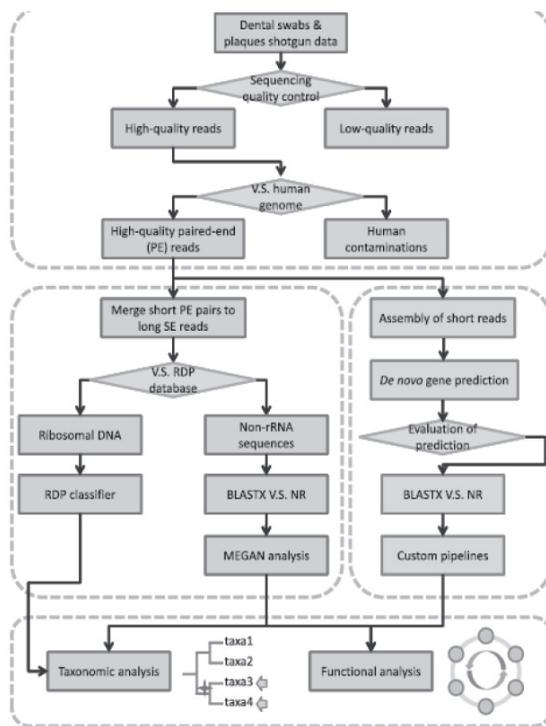


Figura1. Descripción generalizada de los pasos para el análisis metagenómico del microbioma oral. Fuente: FDI World Dental Federation.

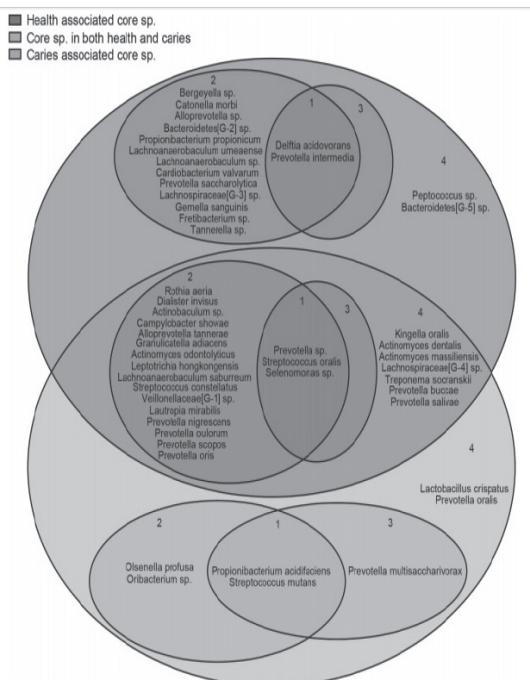


Figura 2: mMicrobioma central relacionado en pacientes con caries radicular y sanos. Círculo rojo: especies bacterianas asociadas a individuos sanos. Círculo amarillo: Especies encontradas en individuos sanos y con caries radicular. Círculo verde: especies encontradas en individuos con caries radicular. Fuente: Anderson (2002).



Figura 3: Composición bacteriana de diferentes muestras orales del mismo individuo. Cada anillo se corresponde con el ADN extraído de saliva, placa dental de las superficies dentales, y una lesión cariosa del esmalte, al igual que ARN de la misma lesión (círculo interior). Tamaño de la fuente está relacionado con la proporción de cada grupo taxonómico en la muestra. Círculo azul externo: muestra de saliva. Círculo verde: muestra de placa dental. Círculo naranja: muestra de lesión del esmalte. Círculo rojo: muestra de ARN de lesión cariosa. Fuente: Loesche (1986).