



REVISTA BIOCIENCIAS

Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud

Vol. 18, Núm. 2 (2023)

ANÁLISIS DE LA RELACIÓN DE LA MICROBIOTA ORAL Y LA PATOLOGÍA ORAL MEDIANTE MÉTODOS METAGENÓMICOS

Mirchandani Ramesh, J; Martín Vacas, A; Paz Cortés, MM

Universidad Alfonso X el Sabio

Facultad de Ciencias de la Salud

Villanueva de la Cañada

ANÁLISIS DE LA RELACIÓN DE LA MICROBIOTA ORAL Y LA PATOLOGÍA ORAL MEDIANTE MÉTODOS METAGENÓMICOS

Mirchandani Ramesh, J.

Estudiante Grado de Odontología. UAX

Martín Vacas, A

Profesora Asociada Grado en Odontología. UAX.

Paz Cortés, MM

Profesora Asociada Grado en Odontología. Coordinadora Odontopediatria. UAX.

Dirección de correspondencia : Jaan Mirchandani Ramesh: jmirgram@myuax.com

RESUMEN

Introducción: La microbiota oral, compuesta aproximadamente por 700 especies bacterianas, está implicada en la inducción y formación del sistema inmune, manteniendo así la salud general del huésped. Una disbiosis puede originar patologías como la caries y la periodontitis, pudiendo ser analizadas a través de métodos metagenómicos, como la secuenciación del ARNr 16S.

Objetivo: evaluar la metagenómica como herramienta para estudiar la microbiota oral y conocer sus inconvenientes, describir la microbiota específica de cada localización de la cavidad oral, y analizar la relación entre la caries y parámetros salivales: pH, flujo salival, TAC y TPC.

Material y método: la presente revisión bibliográfica se ha realizado consultando las bases de datos científicas PubMed, SciELO, Cochrane Library y Sapiens. Para obtener los resultados preliminares presentados, se han recogido 40 muestras de saliva de adultos y 40 de niños en la Clínica Odontológica Universitaria UAX, realizando una medición del pH y flujo salival, un recuento de la cantidad de proteínas totales y un análisis de la capacidad antioxidante de la saliva.

Resultados/discusión: al analizar los grupos de enfermedad y edad, se encuentra que el pH de los adultos es ligeramente más ácido que el de los niños, y se hallan diferencias significativas en cuanto al TPC y TAC, resultando ambos valores mayores en adultos sanos que en niños ($p < 0.05$).

Conclusión: la metagenómica es un instrumento que permite lograr un diagnóstico precoz, un tratamiento preciso y un control y monitorización de la enfermedad a largo plazo.

PALABRAS CLAVE: *microbiota oral, metagenómica, microflora gingival*

ABSTRACT

Introduction: the oral microbiota, made up of approximately 700 bacterial species, is involved in the induction and formation of the immune system, thus maintaining the overall health of the host. A dysbiosis can cause pathologies such as caries and periodontitis, which can be analyzed through metagenomic methods, such as 16S rRNA sequencing.

Aim: evaluate metagenomics as a tool to study the oral microbiota and discover its drawbacks, describe the specific microbiota of each location in the oral cavity, and analyze the relationship between caries and salivary parameters: pH, salivary flow, TAC and TPC.

Material and method: this bibliographic review has been carried out by consulting the scientific databases PubMed, SciELO, Cochrane Library and Sapiens. In order to obtain the preliminary results presented, 40 saliva samples from adults and 40 from children have been collected at the UAX University Dental Clinic, performing a measurement of pH and salivary flow, a count of the total amount of proteins and an analysis of the antioxidant capacity of the saliva.

Results/discussion: when analyzing the disease and age groups, it is found that the pH of adults is slightly more acidic than the children's one, and significant differences are found in terms of TPC and TAC, both values being higher in healthy adults than in children ($p < 0.05$)

Conclusion: metagenomics is an instrument that allows an early diagnosis, precise treatment and long-term control, and monitoring the disease

KEY – WORDS: *oral microbiome, metagenomics, gingival microflora*

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Descripción de microbiota

Las primeras formas de vida en la Tierra (hace aproximadamente 3500 millones de años) de las que se tienen constancia fueron bacterias anaerobias, que ayudaron a la actual evolución que presentan todas las formas de vida, entre las que se encuentran las plantas, los animales y los seres humanos actuales. Es por ello que, por carga genética, la microbiota se ve influenciada por factores como la disponibilidad de oxígeno y los nutrientes disponibles. (1)

El término microbiota hace referencia a una asociación de microorganismos con propiedades, beneficiosas o nocivas, que coexisten en un huésped. El conjunto de todo el material genético de la microbiota se denomina metagenoma, incluyendo tanto su fisiología como el metabolismo de sus integrantes. Una microbiota se compone por distintas especies que cohabitan en simbiosis con el huésped: hongos, protozoos, virus y microorganismos procariotas (bacterias y arqueas), siendo estos últimos los más estudiados en la actualidad. (2, 3)

La microbiota está implicada en funciones como la inducción, formación y función del sistema inmune del huésped, con el fin común de lograr un mantenimiento de la salud general del huésped (4-6).

1.2. Microbiota oral: tipos y localizaciones

La microbiota de la cavidad oral es un grupo de diversas biopelículas microbianas que se compone de aproximadamente 700 especies de bacterias distintas. Es necesario contemplar que la heterogeneidad de la microbiota oral es específica de cada localización anatómica, así, los ejemplares de placa dentobacteriana supragingival o subgingival, mucosa, lengua y saliva son distintas, dependiendo de factores como el estado de salud sistémico, la dieta, edad y sexo, y estilo de vida del huésped (7).

El género *Streptococcus* en concreto tiene especies diferentes según se halle en lengua (*S. salivarius* y *S. parasanguinis*) o en placa dental (*S. sanguinis* y *S. gordonii*). En cambio, la especie *Porphyromonas pasteri* se encuentra disponible en todos los nichos orales estudiados (7).

1.2.1.- Microbiota supragingival

Las superficies dentales tienen la característica exclusiva de sobresalir a través de la mucosa, estando recubiertos por una película de lípidos, proteínas, glicolípidos y glicoproteínas (8).

La microbiota supragingival que se halla en superficies dentales libres de caries se compone de los géneros *Campylobacter*, *Granulicatella*, *Kingella*, *Leptotrichia*, *Streptococcus* (sobre todo *Streptococcus sanguinis*), *Rothia* y *Haemophilus parainfluenza* (2, 3).

1.2.2.- Microbiota subgingival

Los microorganismos que más destacan por su abundancia son los cocos y bastones grampositivos, sobre todo en la colonización temprana. Posteriormente, se coagrega *Actinomyces spp.* con otras bacterias como *Streptococcus*, constituyendo así un esqueleto para el *biofilm* de la placa dental. (5)

1.3. Relación entre microbiota y enfermedad oral

La microbiota de la cavidad oral se diferencia de la microbiota general en que, además de microorganismos comensales, también incluye los microorganismos específicos de las dos enfermedades crónicas más prevalentes en humanos según la OMS: caries y periodontitis (5).

1.3.1.- Caries Dental

La caries dental es considerada una de las enfermedades crónicas más prevalentes del mundo, siendo la causa más común de que exista dolor y pérdida de dientes en la boca. Es una patología de origen multifactorial, en la que cobra un papel fundamental el azúcar, puesto que, mediando en el *biofilm*, puede llevar a un constante proceso de desmineralización y remineralización, alterando la microbiota oral (5).

La disbiosis de la microbiota en la caries dental distingue 3 estadios reversibles:

- En estado saludable, donde habitan en la superficie del esmalte *Streptococcus* y *Actinomyces no mutans*
- Una estabilidad dinámica con desmineralización/remineralización en equilibrio
- Cuando existe una etapa alargada en el tiempo con suministro frecuente de carbohidratos, donde hay un incremento de especies acidúricas (*Streptococcus mutans*, lactobacilos, bifidobacterias y levaduras). (9)

1.3.2.- Periodontitis

Antes de la aparición de técnicas de secuenciación metagenómica, se vinculaba la aparición de periodontitis con un complejo formado solamente por tres microorganismos: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia*. No obstante, el desarrollo de estos estudios ha ayudado a conocer que la disbiosis de la microbiota oral de individuos con periodontitis presenta un acopio mayor de especies, destacando la correlación entre los géneros *Treponema*, *Porphyromonas*, *Prevotella* y *Fusobacterium*. (2, 10).

1.3.3.- Microbiota periimplantaria

Los implantes dentales sirven de nicho microbiológico debido a su rugosidad, morfología, material de confección y energía superficial, siendo esta última menor que en dientes naturales, por tanto, logrando una mayor susceptibilidad a la adhesión bacteriana (11). Se considera una microbiota periimplantaria normal aquella que presente fundamentalmente colonias de *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Rothia* y *Neisseia*.

1.4. Definición de metagenómica

Se define metagenómica (en adelante mNGS) como una técnica de análisis de laboratorio cuyo objetivo es extraer secuencias del genoma de microorganismos, para estudiar en profundidad su ADN (12). Hablamos de secuenciación de nueva generación (en adelante NGS) al hacer referencia a una tecnología que ayuda a mejorar los procedimientos de diagnóstico y rastreo de patologías infecciosas (12).

De igual manera que sucede en otros tipos de examen microbiológico, el uso de mNGS debe pasar por un exhaustivo proceso de aval clínico, en los que:

- Se manifieste la utilidad clínica
- Permita conocer la técnica
- Revelen fallos en el procedimiento.

Para admitir el uso rutinario de mNGS como método diagnóstico, hay que preparar tanto a clínicos como a proveedores médicos para estandarizar nuevas pautas de trabajo y familiarizarse con el procedimiento (13).

1.5. Aplicaciones de la metagenómica

El agente causal puede llevar incorporados numerosos patógenos. El poder recuperar y extraer de manera aislada el microorganismo del medio de cultivo rutinario es una tarea limitada, debido a la administración precoz de profilaxis antibiótica o el uso de antibióticos de amplio espectro (13, 15).

La principal ventaja de la mNGS es el muestreo objetivo, que proporciona una extensa identificación de patógenos esperados o desconocidos e incluso el hallazgo de nuevos microorganismos (16). La mNGS también puede ser utilizada con un rumbo específico, como el uso de cebadores de ARNr 16S y secuencias espaciadoras transcritas internas para localizar infecciones bacterianas y micóticas (13, 15)

1.5.1.- Afectación oral

La microbiota oral se ha relacionado hasta el momento con muchas enfermedades, como la osteítis alveolar, la amigdalitis, las enfermedades cerebrales, los abscesos hepáticos, el cáncer o las enfermedades cardiovasculares (18, 19), desempeñando un papel fundamental en el desarrollo de enfermedades comunes de la cavidad oral. Tales como caries dental, periodontitis, estomatitis aftosa recurrente (EAR) o cáncer oral (20-22). Estudios recientes sugieren que estas enfermedades pueden ser el resultado de un desequilibrio en la comunidad bacteriana, lo que involucraría a más bacterias (23-26).

La estomatitis aftosa recurrente (EAR) es considerada la patología más frecuente de la mucosa oral y la lengua, siendo la responsable (en su forma menor) del 70-85% de las aftas. Entre la etiología de la EAR se encuentran factores locales (traumatismos), nutricionales, inmunológicos, hormonales, estrés, alergias alimentarias y factores microbianos (27). Destaca un descenso del número de *Firmicutes* y un aumento de *Proteobacteria* (28), habiendo también asociación con virus eucarióticos como HSV1, *Varicella-zoster*, Citomegalovirus o *Adenovirus* (29-31).

2. OBJETIVOS

1. Evaluar la metagenómica como herramienta para estudiar la microbiota oral y conocer sus inconvenientes
2. Describir la microbiota específica de cada localización de la cavidad oral
3. Analizar la relación entre la caries y parámetros salivales: pH, flujo salival, TAC y TPC.

3. MATERIAL Y MÉTODO

Para el desarrollo del presente trabajo, se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de toda la información disponible en la literatura más actual acerca del tema escogido, realizando una búsqueda electrónica de artículos publicados en revistas internacionales, utilizando varias bases de datos científicas como Medline (PubMed), SciELO y Cochrane Library (Embase), y a través de Sapiens (buscador de la biblioteca de la Universidad Alfonso X El Sabio), así como una búsqueda manual de fuentes adicionales, en las listas de referencias bibliográficas de los estudios y revisiones potencialmente más relevantes.

Se incluyeron únicamente artículos de estudios clínicos y revisiones bibliográficas publicados en idiomas español e inglés, entre los años 1998 y 2023, siendo más del 50% de las referencias de los últimos cinco años.

La búsqueda bibliográfica se realizó a través de los operadores booleanos “AND/OR” y las palabras clave empleadas fueron: “oral microbiome”, “oral metagenomics”, “next-generation sequencing”, “gingival microflora”, “oral pathogen”.

Esquema PICO:

<p>P. Pacientes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pacientes con patologías orales (caries, enfermedad periodontal), enfermedad del tracto respiratorio, patología ocular, gastrointestinal, del torrente sanguíneo y del SNC
<p>I. Intervención</p> <ul style="list-style-type: none"> • Métodos metagenómicos. ARN 16S, HTS
<p>C. Comparación</p> <ul style="list-style-type: none"> • PCR, cultivo convencional, estudios bioquímicos
<p>O. Outcome</p> <ul style="list-style-type: none"> • Los métodos mNGS poseen ventajas, como la objetividad y especificidad de sus mediciones, y desventajas como la gran probabilidad de contaminación de las muestras y, hasta el momento, bases de datos poco extensas.

3.1. Criterios de inclusión

- Revisiones sistemáticas, estudios clínicos, casos clínicos, casos y controles y otras revisiones bibliográficas.
- Artículos y libros, relacionados con el tema del trabajo.
- Publicaciones en idioma inglés y español.

3.2. Criterios de exclusión

- Publicaciones en otro idioma que no sea inglés o español.
- Publicaciones de acceso no gratuito, ni de texto completo y que no fueran de las bases de datos de Medline (PubMed), SciELO y Cochrane Library (Embase) y Sapiens, así como de páginas webs oficiales.

4. RESULTADOS

Base de datos	Ecuación	Autor	Año	Total
PubMed	oral microbiome) AND (oral metagenomics) AND (next-generation sequencing) AND (gingival microflora OR oral pathogen)	Socransky S. y cols	1998	22
		Jenkinson H. y cols	2005	
		Katharios S. y cols	2014	
		Walker AW. y cols	2014	
		Hijazi K. y cols	2015	
		Lefterova MI. y cols	2015	
		Banaei E. y cols	2015	
		Ellington MJ. y cols	2017	
		Mira A. y cols	2017	
		Proctor DM. y cols	2018	
		Roosaar A. y cols	2018	
		Berglundh T. y cols	2018	
		Wilson MR. y cols	2018	
		Fang C. y cols	2018	
Ndegwa N. y cols	2018			

	oral microbiome) AND (oral metagenomics) AND (next-generation sequencing) AND (gingival microflora OR oral pathogen)	Roy S. y cols	2018	
		Li H. y cols	2019	
		Fakhruddin KS. y cols	2019	
		Gu W. y cols	2019	
		Hagenfeld D. y cols	2019	
		Kaan AMM. y cols	2021	
		Zhu J. y cols	2022	
		He L. y cols	2022	
Scielo	oral microbiome) AND (oral metagenomics) AND (next-generation sequencing) AND (gingival microflora OR oral pathogen)	Castro RJ. y cols	2012	4
		Cruz Quintana SM. y cols	2017	
		Huaraca-Meza F. y cols	2021	
		Mazón-Baldeón. y cols	2017	
Cochrane Library	oral microbiome) AND (oral metagenomics) AND (next-generation sequencing) AND (gingival microflora OR oral pathogen)	Riley P. y cols	2017	8
		Mira A. y cols	2017	
		Burton MJ. y cols	2019	
		Hernández-Ruiz P. y cols	2019	
		Xie F. y cols	2021	
		Schwendicke F. y cols	2021	

		Li H. y cols	2021	
		Uchida F. y cols	2021	
		Jervoe-Storm P. y cols	2022	
Sapiens	oral microbiome) AND (oral metagenomics) AND (next-generation sequencing) AND (gingival microflora OR oral pathogen)	Silva M, y cols	2018	2
		Ramos-García P. y cols	2021	
		Sinha R. y cols	2017	
		Bornigen D. y cols	2017	
		Zhang Y. y cols	2018	
		Pardo-Aldave K. y cols	2019	
		Belstrom D. y cols	2020	
		Comas I. y cols	2020	
		Barboza-Solís C. y cols	2021	
		Baker JL. y cols	2021	
		Hernández-Ruiz P. y cols	2022	
Sosa, V. y cols	2022			
Total				47

Tabla I. Artículos ordenados según la base de datos, la ecuación de búsqueda y el año de publicación. Realizada por el autor.

Título	Autores/Año	Ventajas	Desventajas	Conclusión
Clinical Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogen Detection	Gu W, Miller S, Charles Y. (2019)	Creación de nuevas bibliotecas taxonómicas, Descubrir organismos inesperados	Elevado coste económico, Muestras susceptibles de ser contaminadas.	El uso de metagenómica llega a áreas donde otros métodos diagnósticos encuentran limitaciones.
Chronic Meningitis Investigated via Metagenomic Next-Generation Sequencing	Wilson M, O'Donovan B, Gelfand J. (2018)	Amplio espectro de microbios estudiados: 1 parásito, 1 virus y 4 hongos. Primer caso de meningitis subaracnoidea descubierto por mNGS	Muestra de pocos pacientes, Seguimiento menor a 2 años.	El uso puntual de algoritmos en estudios mNGS ayuda tanto a interpretar datos como a atribuir a los microorganismos la importancia biológica que requieren
The role of salivary contents and modern technologies in the remineralization of dental enamel: a narrative review	Farooq I, Bugshan A. (2020)	Uso de saliva como método diagnóstico poco invasivo, y con mayor aceptación por parte de los voluntarios	La contaminación de las muestras fue un factor constante durante todo el estudio. Validaron los resultados mediante PCR convencional	La patogenicidad de la caries y erosión dental poseen relación directa con la capacidad tamponadora de la saliva
Salivary proteins and microbiota as biomarkers for early childhood caries risk assessment	Hemadi S, Huang R, Zhou Y, Zou J. (2017)	Amplia muestra (451 muestras de niños)	Muestras tomadas del mismo nicho ecológico	No se hallaron cambios relevantes relacionados con otras proteínas salivales estudiadas

Título	Autores/Año	Ventajas	Desventajas	Conclusión
Afectación oral en el paciente con síndrome de Sjögren primario. Manejo multidisciplinar entre odontólogos y reumatólogos	López-Pintor R, Fernández M, Hernández G. (2015)	Diagnóstico multidisciplinar de la patología oral en cuanto al descenso cuantitativo de flujo salival	Diagnóstico mayoritariamente clínico, sin profundizar en la fisiología.	Un diagnóstico precoz puede poner pronta solución a la hipofunción de las glándulas salivales
Estrés oxidativo en saliva generado por el humo de tabaco: impacto en la periodontitis y perspectivas hacia el uso de farmacología redox	Sosa V, Aicardo A, Valez V. (2022)	Se halla evidencia que relaciona niveles bajos de TAC con dientes cariados y patología periodontal	Estudio reciente (<1 año), sin nuevas actualizaciones	Biomarcador prometedor en patología oral
Differences in microbiome changes between anti-adhesive and antibacterial ingredients in toothpastes during periodontal therapy	Hagenfeld D, Prior K, Harks I, Jockel-Schneider Y, Way M, Harmsen D, Schlagenhaut U, Ehmke B. (2019)	Ensayo controlado aleatorizado	No hay conclusiones definitivas, puesto que la investigación sigue en marcha	Los resultados preliminares deducen que la hidroxiapatita antiadhesiva en dentífricos es una medida preventiva pero no curativa
Multi-omics Analysis of Periodontal Pocket Microbial Communities Pre and Post treatment	Califf K, Schwarzberg L, Gibbons S.M., Caporaso J. (2017)	Seguimiento de los pacientes hasta +2 años después del tratamiento	Resultados analizados en una biblioteca mNGS actualmente anticuada.	Tratamiento adecuado frente a <i>Porphyromonas</i> , <i>Treponema</i> y <i>Tannerella</i>

Tabla II. Resultado de los artículos utilizados para realizar la discusión. Realizada por el autor.

5. DISCUSIÓN

5.1. pH

Como se ha podido comprobar, en cuanto al pH salival, existe una diferencia estadísticamente significativa entre los valores obtenidos en dientes cariados y no cariados, puesto que los microorganismos se adhieren a la matriz del *biofilm* dificultando, de este modo, la capacidad tamponadora de la saliva, y creando un descenso del valor de pH.

La patogenicidad de la caries y la erosión del esmalte tienen una relación directa con el sistema tampón de la saliva, el cual trata de neutralizar cualquier ataque ácido producido por la ingesta de ciertos alimentos (10).

Este proceso comienza cuando el pH es menor a 6.8, y constituye un daño irreversible cuando es menor a 5.5, puesto que el esmalte no volverá a regenerar.

El estudio de Farooq y cols (38) confirma la hipótesis afirmando que, una vez iniciado el proceso de desmineralización del esmalte, este nunca podrá ser reparado biológicamente.

En nuestro estudio se obtuvo un pH en niños con caries de 7.14, valor ligeramente más bajo que el obtenido por Farooq y cols. en su investigación, el cual se estableció, para el mismo parámetro, en 7.40, hecho que se traduce en la aparición de caries en paciente infantil con un pH más básico.

Estas medidas que estudia en su artículo se basan en sistemas de regeneración biomiméticos combinando: fosfoproteínas dentinarias (en adelante DDP), porciones de amelogenina recombinadas, péptidos de amelogenina ricos en leucina y nano-hidroxiapatita.

Dichas moléculas, originadas en laboratorios de ciencias biotecnológicas, tendrán la capacidad de parar el proceso de desmineralización mediante sistemas DDP, que funcionan cuando la saliva conserva su porcentaje normal de iones calcio y fosfato (19).

El estudio propone, como medida preventiva a desequilibrios del pH en dientes cariados, el aumento de la alcalinidad a través de la alimentación, incorporando verduras y bebiendo agua tanto alcalinizada como ionizada.

5.2. Flujo salival

Respecto al flujo salival, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre piezas cariadas y no cariadas; las bacterias tendrán un grado de adhesión diferente a las superficies dentarias según las características que estas presenten como, por ejemplo, la rugosidad o porosidad del esmalte, la cantidad de dentina expuesta, o el acceso de la saliva para realizar la autoclisis.

Aunque exista una microbiota oral especialmente patógena en el *biofilm*, y con condiciones idóneas para la cavitación del esmalte (pH ácido, presión parcial de oxígeno modificada y componentes nutricionales diferentes), la estimulación de los sistemas nerviosos simpáticos y parasimpáticos no presentarán una atrofia en la inervación, siguiendo la secreción salival un cauce normal en cuanto a cantidad se refiere (26).

La toma de muestras para medición de flujo salival tuvo la indispensable condición de ser recogida en reposo, para no alterar la función de las glándulas salivales.

A pesar de tener diferente grado de adhesión, el flujo siempre será el mismo, hecho probado en el estudio de López-Pintor y cols (39), en el que se confirma que no existe diferencia de flujo salival entre dientes con o sin caries, debido a que la presencia de caries no genera hipofunción de las glándulas salivales.

El estudio toma la saliva como método de valoración del riesgo de caries, diagnóstico precoz de enfermedades de la cavidad oral y monitorización de patologías, marcando como desventaja la escasa estandarización que existe a la hora de recolectar muestras en pacientes que poseen un escaso flujo salival, como en el caso de pacientes polimedicados (39).

Sin embargo, el estudio afirma que una clara desventaja es que se toman como iguales las muestras de sujetos indiferentes, pasando por alto la distinción de tasas de flujo salival entre hombres y mujeres (39).

Otra diferencia significativa reside en que el riesgo de caries en el adulto aumenta de manera directamente proporcional en relación a la edad, sin llegar estos valores a los estudiados en pacientes pediátricos (el riesgo es siempre mayor en pacientes odontopediátricos) (26, 39).

Los autores corroboran la importancia de un flujo de saliva promedio con valores dentro de la normalidad para el correcto desarrollo de la salud bucal, pudiendo estar modificado por alteraciones nerviosas, la posición corporal, la luminosidad ambiental o la estimulación olfativa, pero no por la presencia o ausencia de caries (39).

5.3.TPC

Por otro lado, existen diferencias estadísticamente significativas entre TPC de adultos y niños sanos, siendo los valores de adultos más elevados.

Las proteínas y glicoproteínas salivales actúan, como principales componentes del *biofilm*, reteniendo humedad y protegiendo a los dientes y estructuras periodontales. La concentración de proteínas totales puede variar de un individuo a otro por factores como la medicación, la edad o el estado general de salud (22).

Los autores, Hemadi y cols (41) concuerdan en que la TPC en la saliva es un biomarcador de alta relevancia para monitorizar el estado de salud bucal y que, a pesar de poder estar modificados por numerosos factores (como la ingesta desmesurada de alcohol), la presencia de caries no será uno de ellos.

El estudio confirma que la inmunidad innata de la saliva proviene de componentes como los péptidos antimicrobianos y las glicoproteínas salivales, los cuales actúan desde que la saliva es excretada (sale de las glándulas siendo estéril) hasta que es deglutida.

Por otra parte, Castro RJ y cols. (44), concuerdan con los resultados obtenidos en nuestro estudio, obteniendo un valor de TPC total de 1300.01, indicando, además, que la cantidad total de proteínas se ve aumentada en adultos mayores con o sin caries.

Las glicoproteínas, según sean mayores (mucina, proteínas ricas en prolina o inmunoglobulinas) o menores (aglutinina, lactoferrina o cistatina) conforman un amplio rango de componentes tanto estructurales como funcionales que forman la mayor parte del *biofilm*.

5.4.TAC

En cuanto a la actividad antioxidante salival, también hay diferencias estadísticamente significativas tomando como referencia la presencia o ausencia de caries, siendo más elevados los valores cuando se trata de dientes no cariados.

Las principales moléculas que permiten medir la TAC son el ácido úrico y la enzima peroxidasa, y ayudan al entorno oral a eliminar y neutralizar los radicales libres y especies reactivas, con el fin de impedir un daño a los tejidos dentarios (19).

La muestra elegida para el estudio ha sido la saliva, puesto que es el modo menos sencillo y más invasivo. Aun así, la TAC puede ser estudiada mediante muestras de orina y suero sanguíneo. El hecho de preferir saliva antes que punción sanguínea, hace que el estudio cuente con un mayor número de voluntarios.

Los radicales libres, en la cadena de respiración mitocondrial, tienen funciones fisiológicas beneficiosas en el organismo, como la de fagocitosis, participar en la síntesis de colágeno y disminuir la síntesis de catecolaminas. Pero cuando sufren un desequilibrio (estrés oxidativo) harán que se produzcan daños en las estructuras ricas en ellos: el *biofilm*, las membranas celulares y la estructura de las lipoproteínas (19).

Es este desequilibrio el que disminuye los valores de TAC en dientes cariados, dado que el entrecruzamiento de cadenas peptídicas y la fragmentación de las proteínas impiden un normal y adecuado desarrollo de la capacidad antioxidante de la saliva (15, 19).

A la misma conclusión llega el estudio de Sosa y cols (43), afirmando que la TAC se ve disminuida por condiciones como la existencia de humo de tabaco, la periodontitis y la desmineralización del esmalte cavitado.

Los autores concluyen afirmando que el estudio de TAC constituye una herramienta prometedora para alcanzar un mantenimiento de la salud dental en individuos con alta predisposición por la caries (43).

Los resultados de nuestro estudio, en cuanto a la diferencia de TAC entre dientes cariados y no cariados de adultos y niños, son comparables a los resultados obtenidos por la investigación de Silva M y cols, quienes obtienen valores de 364.62 en adultos (frente al nuestro: 367.31) y 269.25 en niños (frente al nuestro: 281.67), concluyendo por tanto la existencia de un estrés oxidativo que logra variar los valores de TAC según la presencia o ausencia de caries (45).

5.5. Metagenómica

Los procedimientos metagenómicos llevados a cabo en situaciones como, por ejemplo, el diagnóstico precoz de enfermedades cerebrovasculares, hacen más accesible el restablecimiento de la salud general del paciente, debido a que pruebas tradicionales como un completo estudio del LCR pueden llegar a tener un costo prohibitivo e inalcanzable para muchos pacientes (32).

El estudio de Wilson y cols (2018) (12) avala esta información, alegando que la mNGS puede neutralizar los riesgos que conllevan la biopsia de las meninges para el estudio de pacientes con enfermedades del SNC.

Para dicha investigación, se cree necesaria la confirmación mediante métodos tradicionales del potencial diagnóstico percibido por mNGS, pudiendo agudizar hasta un 99% la tasa de éxito del diagnóstico definitivo, pese a no eliminar los riesgos inherentes que presenta la punción lumbar de LCR (7).

En cuanto a la limitación que supone el procedimiento mNGS, los autores consideran una baja tasa de detección el valor de 95%, depositando confianza en que en un futuro, cuantas más muestras queden registradas en los bancos y bibliotecas de microorganismos, más eficaz será tal método diagnóstico (13).

Esa limitación se puede transformar en una ventaja, pensando que la mNGS es un procedimiento que, cuanto más se utiliza, más eficaz es, puesto que todo nuevo patógeno identificado, será añadido a las diferentes bibliotecas de extensión mundial, logrando así, en un futuro, diagnósticos precisos de todos y cada uno de los desequilibrios presentes en la microbiota de los pacientes (13, 16-18)

El actual estudio (Gu W. y cols 2019) defiende y promueve el uso de mNGS en aquellas situaciones donde los cultivos tradicionales tienen severas limitaciones, como por ejemplo el prolongado tiempo para recibir resultados concretos de tuberculosis o la imposibilidad actual de conocer al detalle la microbiota periimplantaria con métodos poco invasivos (13).

Los autores coinciden en que es factible un descenso de la morbilidad y la mortalidad de pacientes hospitalarios en los que con frecuencia pasan desapercibidos microorganismos pertenecientes a la contaminación por patologías nosocomiales, así como por falta de precisión en los tratamientos (exceso de medicación de amplio espectro, la cual crea resistencias) (13, 14).

La principal desventaja que comentan es la contaminación de las muestras mNGS, debido a la alta tasa de detección que posee. El hecho de que mNGS haga referencia a la obtención de resultados objetivos, hace que se faciliten en un futuro cercano los estudios que, mediante creación de nuevos bancos de laboratorio, puedan descartar tal contaminación (16).

Es cada vez más notable la precisión que logra, puesto que se añaden controles en todos y cada uno de los pasos del proceso: desde la recogida de muestras hasta la obtención de su resultado, pasando por el transporte al laboratorio. Estos controles se incluyen en forma de tiras reactivas, uso de material totalmente estéril y personal altamente cualificado para el tratamiento de las muestras (12, 16).

Sin embargo, opinan que, como toda tecnología nueva, es cuestión de tiempo que mNGS pueda ser utilizado para el diagnóstico precoz y tratamiento más preciso de patologías, tanto a nivel sistémico, como a nivel oral (32).

Actualmente, hay en marcha estudio dirigido por Hagenfeld y cols que trata de llevar a cabo un análisis, mediante secuenciación metagenómica del ARNr 16S, para comparar la microbiota de la placa subgingival existente en pacientes con diferentes modos de higiene mecánica: aquellos que utilizan pasta de dientes con hidroxiapatita antiadhesiva, o aquellos la utilizan con fluoruro antimicrobiano. Sus resultados preliminares obtenidos hasta la fecha deducen que la acción antiadhesiva de la hidroxiapatita es una solución preventiva, pero no un tratamiento paliativo que elimine la placa subgingival (46).

Este estudio toma como base la investigación encabezada por Califf K. y cols, que también utilizan la secuenciación metagenómica del ARNr 16S para evaluar el efecto de un enjuague de agua con hipoclorito de sodio al 0.25% en el tratamiento de bolsas periodontales, resultando eficaz frente a las poblaciones de *Porphyromonas*, *Treponema* y *Tannerella* (47).

6. CONCLUSIONES

1. La metagenómica se considera una impetuosa herramienta que permite explorar en detalle valores del entorno oral (y más parámetros correspondientes a una gran multitud de patologías sistémicas) para lograr un diagnóstico precoz, un tratamiento preciso y un control y monitorización de la enfermedad a largo plazo.
2. Cada superficie de la cavidad oral cuenta con un ecosistema exclusivo dispuesto en el biofilm, con características (como el pH, presión parcial de oxígeno o temperatura) diferentes, siendo la especie común en todos los nichos orales la *Porphyromonas pasteri*, en cambio, se consideran específicos los Firmicutes en vientre de la lengua y paladar duro, *S. salivarius* y *S. parasanguinis* en dorso lingual, *S. sanguinis* y *S. gordinii* en la placa dental, y los géneros *Streptococcus*, *Rothia* y *Haemophilus* en las superficies dentales libres de caries.
3. Los métodos de diagnóstico metagenómicos poseen dos inconvenientes principales: la alta tasa de contaminación de las muestras (debido a la alta sensibilidad de detección de microorganismos) y la falta de ampliación de las bases de datos biotecnológicas (por ser una ciencia todavía en auge que necesita continuas actualizaciones).

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Kaan AMM, Kahharova D, Zaura E. Acquisition and establishment of the oral microbiota. *Periodontol 2000* [Internet]. 2021;86(1):123–41. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33690935/>
2. Hernández-Ruiz P, González-Pacheco H, Amezcua-Guerra LM, Aguirre-García MM. Relación entre la disbiosis de la microbiota oral y la enfermedad cardiovascular aterosclerótica. *Arch Cardiol Mex* [Internet]. 2022;92(3):371–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.24875/ACM.21000198>
3. Barboza-Solís C, Acuña-Amador LA. The oral Microbiota: A literature review for updating professionals in dentistry-part II. *Odovtos - Int J Dent Sci* [Internet]. 2022;23(3):178–89. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/Odontos/article/view/45330>
4. Li H, Chen S, Wu L, Wang H, Xiao K, Gao Y, et al. The effects of perineal disinfection on infant's oral microflora after transvaginal examination during delivery. *BMC Pregnancy Childbirth* [Internet]. 2019;19(1):213. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31234808/>
5. Zhu J, Chu W, Luo J, Yang J, He L, Li J. Dental materials for oral Microbiota dysbiosis: An update. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2022;12:900918. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35846759/>
6. Cruz Quintana SM, Díaz Sjoström P, Arias Socarrás D, Mazón Baldeón GM. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Rev Cubana Estomatol* [Internet]. 2017;54(1):84–99. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072017000100008
7. Belstrøm D. The salivary microbiota in health and disease. *J Oral Microbiol* [Internet]. 2020;12(1):1723975. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/20002297.2020.1723975>
8. Zhang Y, Wang X, Li H, Ni C, Du Z, Yan F. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2018;99:883–93. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332217350990>
9. Proctor DM, Fukuyama JA, Loomer PM, Armitage GC, Lee SA, Davis NM, et al. A spatial gradient of bacterial diversity in the human oral cavity shaped by salivary flow. *Nat Commun* [Internet]. 2018;9(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29445174/>
10. Fakhruddin KS, Ngo HC, Samaranayake LP. Cariogenic microbiome and microbiota of the early primary dentition: A contemporary overview. *Oral Dis* [Internet]. 2019;25(4):982–95. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29969843/>
11. Berglundh T, Armitage G, Araujo MG, Avila-Ortiz G, Blanco J, Camargo PM, et al. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2018;45 Suppl 20:S286–91. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29926491/>
12. Wilson MR, O'Donovan BD, Gelfand JM, Sample HA, Chow FC, Betjemann JP, et al. Chronic meningitis investigated via metagenomic next-generation sequencing. *JAMA Neurol* [Internet]. 2018;75(8):947–55. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29710329/>

13. Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection. *Annu Rev Pathol* [Internet]. 2019;14(1):319–38. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30355154/>
14. Xie F, Duan Z, Zeng W, Xie S, Xie M, Fu H, et al. Clinical metagenomics assessments improve diagnosis and outcomes in community-acquired pneumonia. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2021 [citado el 24 de abril de 2023];21(1):352. Disponible en: <https://www.cochranelibrary.com/central/doi/10.1002/central/CN-02272593/full?highlightAbstract=metagenom%7Cmetagenomics>
15. Ellington MJ, Ekelund O, Aarestrup FM, Canton R, Doumith M, et al. 2017. The role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing of bacteria: report from the EUCAST subcommittee. *Clin. Microbiol. Infect.* 23(1):2–22
16. Sinha R, Stanley G, Gulati GS, Ezran C, Travaglini KJ, et al. 2017. Index switching causes “spreading- of-signal” among multiplexed samples in Illumina HiSeq 4000 DNA sequencing. *bioRxiv* 125724.
17. Fang C, Zhong H, Lin Y, Chen B, Han M, et al. 2018. Assessment of the cPAS-based BGISEQ-500 platform for metagenomic sequencing. *GigaScience* 7(3):gix133
18. Ndegwa, N., Ploner, A., Liu, Z., Roosaar, A., Axéll, T., Ye, W., 2018. Association between poor oral health and gastric cancer: A prospective cohort study. *Int. J. Cancer* 143, 2281-2288.
19. Schwendicke F, Walsh T, Lamont T, Al-Yaseen W, Bjørndal L, Clarkson JE, et al. Interventions for treating cavitated or dentine carious lesions. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2021;7(7):CD013039. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD013039.pub2>.
20. Li H, Guo Z, Li C, Ma X, Wang Y, Zhou X, et al. Materials for retrograde filling in root canal therapy. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2021;10(10):CD005517. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD005517.pub3>
21. Katharios S, Xi C, Jakubovics NS, Rickard AH. Mini-review: Microbial coaggregation: ubiquity and implications for biofilm development. *Biofouling*. 2014;30(10):1235-51. doi: 10.1080/08927014.2014.976206.
22. Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Cugini, M.A., Smith, C., Kent, R.L., Jr, 1998. Microbial complexes in subgingival plaque. *J. Clin. Periodontol.* 25, 134-144.
23. Uchida F, Oh S, Shida T, Suzuki H, Yamagata K, Mizokami Y, et al. Effects of exercise on the oral Microbiota and saliva of patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2021;18(7):3470. Disponible en: <https://www.cochranelibrary.com/central/doi/10.1002/central/CN-02298291/full?highlightAbstract=oral%7Cmetagenom%7Cmetagenomics>
24. Jenkinson, H.F., Lamont, R.J., 2005. Oral microbial communities in sickness and in health. *Trends Microbiol.* 13, 589-595.
25. Jervøe-Storm P-M, Eberhard J, Needleman I, Worthington HV, Jepsen S. Full-mouth treatment modalities (within 24 hours) for periodontitis in adults. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2022;6(6):CD004622. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD004622.pub4>
26. Mira, A., Simon-Soro, A., Curtis, M.A., 2017. Role of microbial communities in the pathogenesis of periodontal diseases and caries. *J. Clin. Periodontol.* 44, 23-38.
27. Burton MJ, Pollard AJ, Ramsden JD, Chong L-Y, Venekamp RP. Tonsillectomy for periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis syndrome (PFAPA). *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2019;12(12):CD008669. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD008669.pub3>
28. Hijazi, K., Lowe, T., Meharg, C., Berry, S.H., Foley, J., Hold, G.L., 2015. Mucosal microbiome in patients with recurrent aphthous stomatitis. *J. Dent. Res.* 94, 87-94.

29. Comparison of the effect of phenytoin and triamcinolone on the minor aphthous ulcer. <https://trialsearch.who.int/Trial2.aspx?TrialID=IRCT20081109001442N3> [Internet]. 2019; Disponible en: <https://www.cochranelibrary.com/central/doi/10.1002/central/CN-01948373/full?highlightAbstract=aphthous%7Culcer>
30. Börnigen, D., Ren, B., Pickard, R., Li, J., Ozer, E., Hartmann, E.M., Xiao, W., Tickle, T., Rider, J., Gevers, D., Franzosa, E.A., Davey, M.E., Gillison, M.L., Huttenhower, C., 2017. Alterations in oral bacterial communities are associated with risk factors for oral and oropharyngeal cancer. *Sci. Rep.* 7, 17686.
31. Ramos-Garcia P, Roca-Rodriguez MDM, Aguilar-Diosdado M, Gonzalez-Moles MA. Diabetes mellitus and oral cancer/oral potentially malignant disorders: A systematic review and meta-analysis. *Oral Dis* [Internet]. 2021;27(3):404–21. Disponible en: https://sapiens.uax.es/primoexplore/fulldisplay?docid=TN_cdi_proquest_miscellaneous_2348234449&context=PC&vid=34UAX_V1&lang=es_ES&search_scope=default_scope&adaptor=primo_central_multiple_fe&tab=default_tab&query=any,contains,oral%20cancer&offset=0
32. Lefterova MI, Suarez CJ, Banaei N, Pinsky BA. 2015. Next-generation sequencing for infectious disease diagnosis and management: a report of the Association for Molecular Pathology. *J. Mol. Diagn.* 17(6):623–34
33. Comas I, Cancino-Muñoz I, Mariner-Llicer C, Goig GA, Ruiz-Hueso P, Francés-Cuesta C, et al. Uso de las tecnologías de secuenciación masiva para el diagnóstico y epidemiología de enfermedades infecciosas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [Internet]. 2020;38 Suppl 1:32–8. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-uso-tecnologias-secuenciacion-masiva-el-S0213005X20300367>
34. Roy S, Coldren C, Karunamurthy A, Kip NS, Klee EW, et al. 2018. Standards and Guidelines for Validating Next-Generation Sequencing Bioinformatics Pipelines: a joint recommendation of the Association for Molecular Pathology and the College of American Pathologists. *J. Mol. Diagn.* 20(1):4–27
35. Huaraca-Meza F, Custodio M, Peñaloza R, Alvarado-Ibañez J, Paredes R, De la Cruz H, et al. Bacterial diversity in high Andean grassland soils disturbed with *Lepidium meyenii* crops evaluated by metagenomics. *Braz J Biol* [Internet]. 2021;82:e240184. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/5GtXchjmcLVmmkCqKqP6bNf/?lang=en>
36. Pardo-Aldave K, Pareja-Vásquez M, Guillén A, Ureta-Tapia JM. Actividad antimicrobiana in vitro del camu camu (*Myrciaria dubia*) contra microorganismos orales: una revisión sistemática. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2019;36(4):573–82. Disponible en: <https://scielosp.org/pdf/rpmesp/2019.v36n4/573-582/es>
37. Walker AW, Duncan SH, Louis P, Flint HJ. Phylogeny, culturing, and metagenomics of the human gut microbiota. *Trends Microbiol.* 2014;22(5):267-274.
38. Baker JL, Morton JT, Dinis M, Alvarez R, Tran NC, Knight R, et al. Deep metagenomics examines the oral microbiome during dental caries, revealing novel taxa and co-occurrences with host molecules. *Genome Res* [Internet]. 2021;31(1):64–74. Disponible en: <http://genome.cshlp.org/content/31/1/64.abstract>
39. Farooq, I., & Bugshan, A. (2020). The role of salivary contents and modern technologies in the remineralization of dental enamel: a narrative review. *F1000Research*, 9, 171. <https://doi.org/10.12688/f1000research.22499.3>

40. Riley P, Glenny A-M, Hua F, Worthington HV. Pharmacological interventions for preventing dry mouth and salivary gland dysfunction following radiotherapy. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2017;7(7):CD012744. Disponible en: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD012744/full/es>
41. López-Pintor, R. M., Fernández Castro, M., & Hernández, G. (2015). Afectación oral en el paciente con síndrome de Sjögren primario. Manejo multidisciplinar entre odontólogos y reumatólogos. *Reumatología Clínica*, 11(6), 387–394. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2015.03.010>
42. Hemadi, A. S., Huang, R., Zhou, Y., & Zou, J. (2017). Salivary proteins and microbiota as biomarkers for early childhood caries risk assessment. *International Journal of Oral Science*, 9(11), e1. <https://doi.org/10.1038/ijos.2017.35>
43. Sosa, V., Aicardo, A., & Valez, V. (2022). Estrés oxidativo en saliva generado por el humo de tabaco: impacto en la periodontitis y perspectivas hacia el uso de farmacología redox. *Odontoestomatología*, 24(39). <https://doi.org/10.22592/ode2022n39e307>
44. Rj C, Ra G. (2012). Comparación de la concentración total de proteínas salivales de adultos y adultos mayores [Internet]. Scielo.cl. <https://www.scielo.cl/pdf/piro/v5n1/art05.pdf>
45. Silva MR, Matono D, Bosco AM, Baptistioli L, Torrecilha RBP, Ciarlini PC. Estresse oxidativo em cães com doença periodontal: comparação dos biomarcadores plasmáticos e salivares. *Arq Bras Med Vet Zootec* [Internet]. 2018;70(5):1369–77. Disponible en: <https://sapiens.uax.es/primo-explore/fulldisplay?docid=date&offset=0>
46. Hagenfeld D, Prior K, Harks I, Jockel-Schneider Y, May TW, Harmsen D, et al. No differences in microbiome changes between anti-adhesive and antibacterial ingredients in toothpastes during periodontal therapy. *J Periodontal Res* [Internet]. 2019; 54(4):435–43. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30851050/>
47. Califf K. J., Schwarzberg-Lipson, K, Garg, N., Gibbons, S. M., Caporaso, J. G., Slots, J. R., et al. (2017). Multi-omics Analysis of Periodontal Pocket Microbial Communities Pre and Post treatment. Disponible en: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Multi-omics+Pre+and+Posttreatment%2E&journal=mSystems&author=Califf+K.+J.&author=Schwarzberg-Lipson+K.&year=2017&volume=2&pages=00016%E2%80%939300017