



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---



## **FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

BACTERIAS CULTIVABLES Y NO CULTIVABLES DE LA  
CAVIDAD ORAL

**T E S I N A**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N A   D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

DANIELA MEDINA ROMERO

TUTORA: Mtra. ADRIANA PATRICIA RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ

ASESORA: Mtra. ISABEL MARTÍNEZ SANABRIA

MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>4</b>
<b>DEDICATORIAS.....</b>	<b>5</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>6</b>
Planteamiento y justificación del problema .....	7
Objetivo general .....	8
Objetivo particulares .....	8
<b>BACTERIAS CULTIVABLES Y NO CULTIVABLES DE LA CAVIDAD ORAL .....</b>	<b>9</b>
<b>TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA.....</b>	<b>9</b>
Generalidades .....	9
Métodos fenotípicos .....	10
<i>Caracterización microscópica.....</i>	<i>10</i>
<i>Microscopía de campo claro .....</i>	<i>11</i>
<i>Microscopía de contraste de fases y de campo oscuro.....</i>	<i>11</i>
<i>Microscopía de fluorescencia.....</i>	<i>11</i>
<i>Microscopía electrónica de transmisión y electrónica de barrido .....</i>	<i>12</i>
<i>Tinción de Gram .....</i>	<i>12</i>
<i>Tipos de morfología celular.....</i>	<i>13</i>
<i>Tamaño .....</i>	<i>14</i>
<i>Motilidad .....</i>	<i>14</i>
<i>Caracterización macroscópica (morfología de colonia) .....</i>	<i>15</i>
<i>Medios de cultivo.....</i>	<i>16</i>
<i>Pruebas bioquímicas .....</i>	<i>16</i>
Métodos genotípicos .....	17
<i>PCR convencional.....</i>	<i>18</i>
<i>Hibridación in situ de fluorescencia (FISH).....</i>	<i>20</i>
<i>Hibridación DNA-DNA técnica de Checkerboard.....</i>	<i>21</i>
<i>Microarreglos del Microbioma Oral Humano (HOMIM).....</i>	<i>22</i>
<i>Métodos de secuenciación .....</i>	<i>23</i>
<b>ÁRBOLES FILOGENÉTICOS DE LA CAVIDAD ORAL.....</b>	<b>24</b>
Principales Phylum del árbol filogenético oral humano .....	25

<i>Firmicutes</i> .....	26
<i>Actinobacteria</i> .....	27
<i>Fusobacteria</i> .....	28
<i>Bacteroidetes</i> .....	28
<i>Proteobacteria</i> .....	29
<i>Spirochaetes</i> .....	29
<i>Tenericutes</i> .....	30
<i>Phylum TM7 y Synergistetes</i> .....	30
<b>ASOCIACIÓN BACTERIANA EN LOS ESTADOS DE SALUD Y ENFERMEDAD</b>	
<b>ORAL</b> .....	30
Asociaciones bacterianas en la cavidad oral.....	30
Distribución de las especies bacterianas en la cavidad oral.....	33
<i>Tejidos blandos y saliva</i> .....	33
<i>Placa supragingival y subgingival</i> .....	34
<i>Halitosis</i> .....	35
<i>Enfermedades periodontales</i> .....	35
<i>Periodontitis ulcerosa necrosante (PUN)</i> .....	38
<i>Caries en dientes temporales y permanentes</i> .....	38
<i>Caries radicular</i> .....	39
<b>DISCUSIÓN</b> .....	40
<b>CONCLUSIONES</b> .....	43
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	44
<b>TABLAS</b> .....	67
<b>FIGURAS</b> .....	77

## **Agradecimientos**

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México que me brindó la oportunidad de formar parte de ella y por su gran contribución en mi formación académica y profesional.

Quiero agradecer de manera especial y sincera a mi tutora la Mtra. Adriana Patricia Rodríguez por aceptarme para realizar esta tesina bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo, así como su gran capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable. Le agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo el desarrollo de la presente tesina.

Igualmente a la Mtra. Isabel quien ha compartido conmigo su gran conocimiento y me ha orientado en la estructuración de mi trabajo.

A cada uno de los profesores que me permitieron absorber de ellos el conocimiento que los caracteriza, y me brindaron su apoyo, tiempo e información para el logro de mis objetivos

A los sinodales quienes estudiaron y aprobaron mi tesina.

## **Dedicatorias**

Dedico esta tesina a mi padre Raúl, quién con su esfuerzo constante me ha brindado la oportunidad de llegar a este momento, por su confianza depositada en mí en cada paso que he decidido dar, a su amor y sabiduría, ya que me ha enseñado que cada cosa puede lograrse si ese es nuestro objetivo, aún en los momentos de debilidad. Porque ha estado a mi lado en este trayecto que he trazado y en el cual, ha formado parte de ese gran pilar que me mantiene firme.

A mi madre Claudia que me ha acompañado a lo largo de estos años con su entusiasmo y alegría, y quién ha sido un modelo de fortaleza y lucha constante para seguir adelante.

A mis queridos hermanos y abuelos quienes son parte de mi gran orgullo y motivación.

A Edel, con quien he compartido cada momento de mi formación llenos de experiencias irrepetibles y quien me ha brindado un apoyo incondicional cada día.

Por fin he llegado al principio.

## INTRODUCCIÓN

La cavidad oral contiene diferentes hábitats como son los dientes, lengua, encía, surco gingival, paladar duro y blando, carrillos, amígdalas y labios. Dichas estructuras son colonizadas por distintos microorganismos los cuales determinan el proceso de salud enfermedad. Los microorganismos que se encuentran en la cavidad oral humana conforman la microflora o microbioma oral humano, refiriéndose a una comunidad ecológica comensal y simbiótica de microorganismos potencialmente patógenos, que comparten un espacio corporal, sin causarle daño al hospedero. El aumento de la diversidad microbiana y una sucesión en las especies bacterianas que predominan en el desarrollo de la placa dental, se relacionan con equilibrio ecológico que lleva al predominio de un estado de salud oral, así como también a la aparición de diversas enfermedades orales. En los últimos años, el manejo de métodos moleculares independientes de cultivos, ha permitido identificar alrededor de 700 especies bacterianas en varios sitios de la cavidad oral. Sin embargo, entre el 35 y 50% de las especies aún no han sido cultivadas, siendo esto, una implicación de gran importancia para el conocimiento de los agentes patógenos en infecciones tales como caries dental, enfermedades periodontales, infecciones endodónticas, osteítis alveolar, amigdalitis, entre otras. Aproximadamente entre 250 y 280 especies bacterianas de la cavidad oral se han podido cultivar, caracterizar y nombrar formalmente. Actualmente existe una base de datos del microbioma oral humano (HOMD) que incluye 619 "Taxa" agrupadas en 13 distintos "Phylum" de la siguiente manera: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chloroflexi*, *Euryarchaeota*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, SR1, *Synergistetes*, *Tenericutes* y TM7, misma que se utilizará para el desarrollo del presente trabajo.

## **Planteamiento y justificación del problema**

Dentro de la cavidad oral humana se encuentra una gran diversidad de microorganismos tanto cultivables como no cultivables, que juegan un papel importante en el equilibrio del estado de salud de un individuo. Por otro lado, dichos microorganismos pueden estar involucrados en el desarrollo de patologías orales y sistémicas. Con la aplicación de técnicas moleculares tales como: reacción en cadena de la polimerasa (PCR), técnicas de hibridación DNA-DNA de checkerboard y microarreglos, hibridación in situ y métodos de secuenciación, se pueden identificar géneros y especies bacterianas caracterizadas previamente con técnicas fenotípicas (especies cultivables), adicional a esto, con técnicas como la secuenciación de la fracción 16S rRNA, pueden identificarse especies no caracterizadas fenotípicamente (no-cultivables), ya que se puede secuenciar parte de su genoma y posteriormente compararlo con genomas de géneros y especies bacterianas previamente descritas. Debido a esta gran diversidad y avances moleculares en microbiología, es importante el estudio del microbioma oral humano, así como el estudio de las asociaciones entre bacterias comensales de la cavidad oral, con patologías de reciente estudio.

## **Objetivo general**

Conocer los géneros y especies bacterianas cultivables y no cultivables de la cavidad oral mediante una revisión bibliográfica en artículos científicos, así como la relación que se ha estudiado hasta la actualidad, con el proceso salud-enfermedad en cavidad oral y los microorganismos que la colonizan comensalmente.

## **Objetivo particulares**

- Describir las técnicas de identificación bacteriana con métodos fenotípicos y genéticos para especies bacterianas.
- Conocer las técnicas moleculares de reciente uso para la identificación del microbioma oral humano.
- Conocer cómo se encuentra distribuido el microbioma oral humano en los diversos *Phylum* (reinos) bacterianos, por medio de la revisión de artículos científicos.
- Por medio de la literatura, conocer las especies bacterianas descritas como comensales e involucradas en estado de salud oral, así como en el proceso salud-enfermedad.

# **BACTERIAS CULTIVABLES Y NO CULTIVABLES DE LA CAVIDAD ORAL**

## **TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA**

### **Generalidades**

La información genética en las bacterias, como en toda célula, se encuentra contenida en la secuencia de nucleótidos del DNA cromosómico. El conjunto de los caracteres genéticos que la bacteria posee es el llamado genotipo. Capaz de transmitirse a la descendencia; sin embargo, no todos estos caracteres se manifiestan, sino que el medio ambiente condiciona la aparición o no de ellos. De ahí que se denomina fenotipo al conjunto de caracteres manifestados por interacción del genotipo y el medio ambiente (Murray 2003). En los laboratorios de microbiología, una de las tareas fundamentales es la utilización de metodologías precisas para la identificación de los microorganismos que tienen relación con el hombre, o de aquellos implicados en procesos clínicos asociados a infecciones orales o sistémicas. La identificación bacteriana puede ser realizada por medio de métodos convencionales basados en las características fenotípicas de los microorganismos, así como con técnicas genéticas de reciente uso (Fernández 2010). Los métodos fenotípicos son indispensables para poder caracterizar y nombrar oficialmente a los microorganismos, y a pesar de que se vuelven más costosos por el tiempo de realización, siguen siendo indispensables para la microbiología básica. Por otro lado, la utilización de los métodos genotípicos a pesar de su elevado costo, tienen como ventaja el tiempo reducido de su aplicación, con lo cual se disminuye costos conforme aumenta el número de identificaciones. Estos son utilizados para el estudio de bacterias que no pueden ser crecidas con métodos convencionales, para el estudio de especies conocidas como “fastidiosas” por los altos requerimientos nutricionales o de anaerobiosis en su crecimiento, así como para la identificación de nuevas especies bacterianas.

## **Métodos fenotípicos**

La morfología microscópica y macroscópica de las bacterias, fueron las primeras características utilizadas para identificarlas y aún constituyen elementos fundamentales de identificación y caracterización (Murray 2003). Tradicionalmente, la identificación bacteriana se ha basado en características generales micro y macroscópicas, propiedades bioquímicas y metabólicas, para evaluar características tintoriales, morfología celular, composición de la membrana celular, condiciones de crecimiento, reactividad bioquímica, análisis de producto final bacteriano, sensibilidad a antibióticos entre otras (Paster 2009, Fernández 2010). Sin embargo, existen factores que dificultan el cultivo de algunas especies bacterianas conocidas como “fastidiosas”, la mayoría de las cuales son estrictamente anaerobias y con altos requerimientos nutricionales; la elección del medio de cultivo y el ambiente para su desarrollo, la recolección y el transporte de la muestra (Olsen 1999), son factores que se traducen en un mayor costo, y podrían llegar a proporcionar falsos resultados en la identificación (Paster 2009).

### *Caracterización microscópica*

Históricamente el microscopio fue el primero que permitió revelar los secretos de la estructura celular, e inclusive de movimiento microbiano. Actualmente es un instrumento de gran valor en la biología celular. Los microorganismos pueden ser visualizados utilizando microscopía óptica o electrónica. En general, el microscopio óptico se usa para observar células intactas a relativamente bajos aumentos, mientras que el microscopio electrónico que utiliza fotones en lugar de electrones, se emplea para observar estructuras internas o detalles superficiales de las células a grandes aumentos. El microscopio óptico usa luz visible para iluminar las estructuras celulares. En microbiología se utilizan distintos tipos de microscopios ópticos: de campo claro, contraste de fases, campo oscuro y fluorescencia. Mientras que la microscopía electrónica comprende el microscopio electrónico de transmisión y microscopio electrónico de barrido (Madigan 2009).

### Microscopía de campo claro

Con el microscopio de campo claro, las muestras se visualizan gracias a las diferencias de contraste entre ellas y el medio que las rodea. Estas diferencias se producen porque las células absorben o dispersan la luz en diferentes grados. Generalmente es de uso básico en biología y microbiología ya que permite observar la determinación de la tinción de Gram, definiendo de igual manera, la morfología celular (figura 1), permitiendo un aumento de 10-100 veces con un poder de resolución de 2 $\mu$ m (Madigan 2009).

### Microscopía de contraste de fases y de campo oscuro

El microscopio de contraste de fases se basa en el hecho de que las células poseen un índice de refracción (factor que retrasa la luz cuando atraviesa la muestra) distinto al medio. La luz que pasa a través de una célula, está por tanto en una fase distinta de la que atraviesa el medio. Este efecto se amplifica mediante un dispositivo especial situado en la lente del objetivo dando lugar a la formación de una imagen oscura sobre un fondo brillante (figura 1). El microscopio de campo oscuro es un microscopio en el que el sistema de iluminación incide sobre la muestra sólo lateralmente. La luz que es capaz de alcanzar el objetivo es la dispersada por la muestra y en consecuencia, los microorganismos se observan brillantes sobre un fondo oscuro (figura 1) (Madigan 2009).

### Microscopía de fluorescencia

Este tipo de microscopía se utiliza para visualizar muestras capaces de emitir fluorescencia debido a que poseen sustancias naturales capaces de emitirla como la clorofila, o las células que son activadas con fluorocromos diseñados para estructuras específicas. Un ejemplo es el DAPI (diamino-2-felindinol) que marca DNA celular, así como naranja de acridina marcador de ácidos nucleicos, auramina-rodamina que posee afinidad por los ácidos micólicos cerosos de las paredes celulares de las micobacterias, e isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Forbes 2009). La microscopía de fluorescencia se usa habitualmente en los diagnósticos clínicos así

como en ecología microbiana para enumerar bacterias en medios naturales o en suspensiones celulares (figura 1) (Madigan 2009).

#### Microscopía electrónica de transmisión y electrónica de barrido

La microscopía electrónica de transmisión (TEM-Transmission Electron Microscopy) suele emplearse para el examen de estructuras celulares a muchos aumentos y elevada resolución. El poder de resolución de 0,2nm, permite ver estructuras a nivel molecular, sin embargo los haces de electrones tienen escaso poder de penetración por lo que se emplean técnicas especiales de corte ultrafino a las células, a fin de poder observarlas (figura 1). La microscopía electrónica de barrido (SEM-Scanning Electron Microscopy) es comúnmente utilizada cuando se requiere observar las estructuras externas de un organismo y la organización entre células. Para ello las muestras se recubren de una fina capa de metal pesado que desviara el haz de electrones proyectando la imagen tridimensional sobre una pantalla (figura 1) (Madigan 2009).

#### Tinción de Gram

La mejora del contraste, permite observar con mayor determinación la imagen por microscopía, por ello, la tinción es un método sencillo de aumentar el contraste. Los colorantes son compuestos orgánicos cargados en su mayoría positivamente (básicos o catiónicos) y cada tipo de colorante tiene una afinidad por determinados componentes celulares cargados negativamente (Madigan 2009). El estudio microscópico tras la tinción revela la forma, la manera de agruparse, la estructura de las células y su tamaño (Olmos 2010). Una tinción diferencial muy importante y ampliamente utilizada en microbiología es la denominada tinción de Gram (Madigan 2009), la cual constituye un criterio básico para separar los grandes grupos de clasificación bacteriana, es decir, Gram positivas y Gram negativas (figura 2), que se teñirán color púrpura y rosa respectivamente de acuerdo a la naturaleza y composición química de la pared bacteriana (Madigan 2009, Olmos 2010). Las tinciones diferenciales se realizan sobre preparaciones en portaobjetos con una

suspensión de microorganismos previamente secada y fijada a la flama, se tiñe con un colorante básico, normalmente cristal violeta manteniéndolo durante un minuto, seguido de la adición de lugol durante un minuto. Posteriormente se tratan a las células con alcohol para decolorar durante 20 segundos, seguido de una tinción de contraste con safranina con el fin de distinguir los dos tipos de células en el microscopio. En las bacterias Gram positivas el peptidoglicano representa hasta el 90% de la pared celular, que a su vez, se encuentran embebidos en ella ácidos teicoicos y lipoteicoicos. Éstas, se deshidratan por el alcohol, provocando el cierre de los poros de las paredes e impiden la salida del complejo cristal-yodo tiñéndose color púrpura. Por el contrario, en las bacterias Gram negativas además de su estructura de doble membrana y el complejo lipopolisacárido, el peptidoglicano representa sólo el 10% de la pared celular, por lo que el alcohol penetra rápidamente en la capa externa que es rica en lípidos, decolorándola y la fina capa de peptidoglicano no impide el paso del solvente y la extracción del complejo cristal-yodo (Madigan 2009). Un ejemplo de clasificación basada en la tinción de Gram, es la dada en los esquemas del Dr. Bergey, de esta manera, agrupan a las bacterias en distintos grupos, de acuerdo a caracteres descriptivos morfológicos como son: espiroquetas, cocos aerobios Gram negativos, cocos Gram positivos, bacilos Gram positivos, bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos Gram negativos (figura 2) (Bergey 1994).

#### Tipos de morfología celular

La morfología hace referencia a la forma de las células. Entre las bacterias se presentan morfologías variadas, y las más frecuentes se describen mediante términos que forman parte del léxico básico (Madigan 2009). Una bacteria con morfología esférica u ovoide es llamada coco, y cuando presenta forma cilíndrica se denominan bacilos. Algunas bacterias tienden a curvarse en forma de espiral, llamados entonces espirilos (como *Treponema* sp.). Las células de muchas bacterias se mantienen juntas después de la división celular surgiendo distintos tipos de

agrupaciones como son los grupos de dos cocos y se denominan diplococos (como *Neisseria* sp.). Si los planos de división se mantienen sucesivamente paralelos entre sí, los cocos forman cadenas largas (como *Streptococcus* sp.). Otros forman conjuntos a manera de racimos (como *Staphylococcus* sp.) (Pumarola 1987, Madigan 2009, Slots 1992). Existe una cuarta forma de morfología celular que son los pleomorfos, o bacilos irregulares en algunos casos como es el de algunas especies de *Actinomyces*. Por ejemplo *Actinomyces israelii*, presenta morfología celular en forma de bacilo corto pleomórfico (Pérez 2011).

### Tamaño

Las bacterias presentan tamaños que van desde 0.2µm a más de 700µm de diámetro. La mayoría de los bacilos están entre 0.5-4µm por menos de 15µm de largo, sin embargo, existen microorganismos como las cianobacterias o quimiolitótrofo del azufre *Thiomargarita* que puede alcanzar los 750µm de diámetro, siendo visible a la vista (Madigan 2009). Por otro lado especies como *P. gingivalis* con 0.5 x 1-2µm, *Prevotella intermedia* 0.4-0.7 x 1.5-2µm, *Fusobacterium nucleatum* de 0.4-0.7µm de ancho y 3-10µm de largo, *Selenomonas* sp. 1.1µm de diámetro y 1.1-3.2µm de largo, entre otras especies (Slots 1992).

### Motilidad

Muchas células bacterianas tienen la capacidad de moverse por sí mismas, permitiendo desplazarse en diferentes partes dentro de su medio. Algunas bacterias son mótils gracias a estructuras llamadas flagelos. Los flagelos funcionan por rotación impulsando a las células a través de un medio líquido, y en contra de la corriente, mediante movimientos de nado (swimming), espasmos (Twitching) ó por deslizamiento (Gliding). Un ejemplo de bacterias con movimiento son especies de *Treponema* las cuales presentan movimientos rápidos de nado gracias a sus flagelos axiales (Madigan 2009), así como *Selenomonas sputigena* con movimientos de espasmos debido a la posición de flagelar en medio de la concavidad de la célula (Slots 1992). Los flagelos no rotan a una velocidad constante sino que pueden

aumentar o disminuir su velocidad en función de la energía o potencia de la fuerza motriz de los protones a través de la membrana citoplasmática. Algunas bacterias son mótils aunque carecen de flagelos. Éstas se mueven sobre superficies sólidas mediante un mecanismo de deslizamiento, de forma más lenta y lineal al eje mayor de la célula, soliendo ser células filamentosas o bacilares (Madigan 2009).

#### Caracterización macroscópica (morfología de colonia)

La microbiota oral ha sido estudiada usando técnicas de cultivo, que también han sido un requisito previo para la evaluación de la resistencia antibacteriana (Slots 1992). En términos generales todas las bacterias tienen requerimientos nutricionales imprescindibles para su crecimiento. Las colonias bacterianas son masas visibles de células que se forman por la división de una o varias células y que pueden contener millones de células individuales. La morfología de las colonias es fundamental en la identificación y diferenciación de los microorganismos, de acuerdo las características de tamaño, forma, consistencia, y a veces por su color (figura 3). El tamaño de las colonias bacterianas es generalmente uniforme entre una misma especie. La forma está determinada por los bordes y el grosor de la colonia. El borde puede ser liso, rugoso e irregular; la colonia puede ser plana o tener relieve. La textura es también una observación importante, ya que puede variar desde una colonia seca, viscosa con superficie lisa o granular. Algunas bacterias producen hemolisinas que causan la lisis de los hematíes en medios que contienen sangre, un ejemplo son los *Streptococcus*. El tipo de hemólisis puede ser alfa o parcial, observándose un halo verdoso alrededor de la colonia, beta o total, observándose una zona clara alrededor de la colonia y gama o no hemólisis (Fernández 2010). Esta característica fenotípica, ha permitido agrupar a especies como son los *Streptococcus* del grupo A, y en alguno de los casos poder llegar a la identificación de especies individuales junto con otras características fenotípicas como se describe el manual de Bergey's (Berges 1994).

### Medios de cultivo

En microbiología tradicional, se emplean distintos tipos de medios de cultivo como son selectivos, diferenciales o enriquecidos. Los medios de cultivo selectivos contienen compuestos que inhiben selectivamente el crecimiento de algunos microorganismos, permitiendo el crecimiento de otros como el MTM agar (Thayer-Martin modificado) para el crecimiento de colonias de *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis* (Samaranayake 2006). Los medios diferenciales son aquellos a los cuales se les añade un indicador, normalmente un colorante, para permitir la diferenciación de reacciones químicas particulares que ocurren durante el crecimiento y metabolismo específico bacteriano como es el agar MacConkey, EMB agar (agar eosina-azul de metileno) que es un medio selectivo y diferencial que se usa para identificar *Escherichia coli* por fermentar lactosa (Samaranayake 2006). Éstos son sumamente útiles para distinguir especies bacterianas. Los medios de cultivo enriquecidos, son medios complejos que contienen factores de crecimiento específicos que estimulan el crecimiento de algunos patógenos fastidiosos, siendo importante el medio de cultivo y las condiciones de incubación, es decir, tanto los nutrientes como las condiciones de temperatura, pH y consideraciones osmóticas; NHK Agar (NAM, Hemina, Vitamina K) y FA Agar (Fastidious Anaerobic Agar) son un ejemplo de este tipo de medio (Madigan 2009) utilizados para el crecimiento de especies como *Campylobacter* y *Capnocytophaga* (Slots 1992, Teles IADR 2014).

### Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias objeto de identificación como son la catalasa, coagulasa, oxidasa, óxido-fermentación, fermentación de azúcares. Algunas de estas pruebas son técnicas rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas varias horas (Fernández 2010). La catalasa es un enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y

oxígeno gaseoso que se libera en forma de burbujas. Esta prueba es de uso común para diferenciar *Bacillus* (+) de *Clostridium* (-) como ejemplo. La prueba de coagulasa, permite determinar la capacidad de coagular el plasma por la acción de la enzima coagulasa. Se utiliza para diferenciar *S. aureus* (coagulasa positivo) de otras especies de *Staphylococcus* (-). Mediante la prueba óxido-fermentación determina si la utilización de los hidratos de carbono por parte de un microorganismo se realiza por vía oxidativa (proceso aeróbico) o por vía fermentativa (proceso anaeróbico). Por otra parte, la prueba de fermentación de azúcares, puede detectarse por medio de indicadores de pH, ya que las bacterias anaerobias o anaerobias facultativas a menudo fermentan carbohidratos a ácidos orgánicos y gas ( $H^2$  o  $CO^2$ ) durante el crecimiento fermentativo, lo cual es útil para la diferenciación de bacterias entéricas entre otras técnicas (Madigan 2009, Fernández 2010).

### **Métodos genotípicos**

La base de métodos moleculares independientes de cultivo, han permitido identificar la mayoría de las especies bacterianas predominantes en la cavidad oral. Alrededor de 700 especies bacterianas han sido identificadas en varios sitios de la cavidad oral. Sin embargo, entre el 35 y 50% de las especies aún no han sido cultivadas (Paster 2001, 2009).

La fracción 16S rRNA (figura 4) es la macromolécula más frecuentemente utilizada en estudios de filogenia y taxonomía bacteriana (Munson 2004). Su aplicación molecular fue propuesta por Carl Woese a principios de la década de 1970. 16S rRNA contiene nueve genes o regiones llamadas de hipervariabilidad (V1-V9), que demuestran una considerable diversidad de secuencia entre las diferentes bacterias, lo cual puede ser utilizada para la identificación no sólo de géneros bacterianos, sino de especies y subespecies (Van de Peer 1996). Dentro de secuencia genética de cada región hipervariable, pueden incluirse grupos específicos bacterianos, queriendo decir, que cada región aparece en todos o la mayoría de los miembros de un determinado grupo filogenético, y nunca están presentes en otros

grupos, incluso los más próximos, lo cual las convierte en blancos diana útiles para ensayos de diagnóstico con gran especificidad (Chakravorty 2007). Cada región hipervariable del gen 16S rRNA está flanqueada por regiones conservadas en la mayoría de las bacterias, lo que hace posible el diseño de primers universales para la amplificación de secuencias diana a través de distintas técnicas de PCR (Baker 2003, Munson 2004).

Las técnicas de análisis molecular más utilizadas en la actualidad, para la identificación del microbioma oral humano son métodos basados en Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), incluyendo PCR convencional, PCR multiplex y PCR en tiempo real; los métodos de hibridación tales como hibridación in situ, hibridación DNA-DNA como son la técnica de Checkerboard y Microarreglos del Microbioma Oral Humano (HOMIM) y los métodos de Secuenciación de Sanger y Secuenciación de Nueva Generación (NGS) (Paster 2009).

#### *PCR convencional*

La reacción en cadena de la polimerasa puede amplificar miles de segmentos de DNA y RNA en un solo ensayo. Genera grandes cantidades de genes específicos u otros para posteriores aplicaciones en biología molecular y microbiología (Madigan 2009). El uso principal del PCR, ha sido enfocado como una estrategia dirigida a la determinación de secuencia de genes. En microbiología dirige el enfoque principalmente en la fracción 16S rRNA, ya que tiene regiones altamente conservadas y otras altamente variables (Madigan 2009, Chakravorty 2007), lo cual hace posible determinar la composición y diversidad bacteriana de cualquier sitio ecológico (Olsen 2009). El PCR convencional, se ha utilizado para detectar especies específicas y su prevalencia directamente a partir de muestras clínicas orales. La amplificación de 16S rRNA se realiza a través de varios ciclos con cambios variados de temperatura, en un equipo llamado termociclador, con la adición de una DNA-polimerasa (Taq), y mediante el diseño de primers universales de fin e inicio, un sustrato de DNA purificado a partir de un cultivo puro del agente patógeno o

directamente de la muestra clínica, desoxinucleósidos trifosfato ( dNTPs ) y Buffer de PCR ( 200 mM de Tris-HCl, pH 8.4 ; KCl 500 mM ) (figura 5) (Paster 2009). Estos estudios se han centrado en la detección de algunas especies patógenas periodontales tales como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y patógenos de la caries dental como *Streptococcus mutans* (de Lillo 2004). El uso del PCR y clonación, son estrategias que se dirigen igualmente a fracciones de 16S rRNA y es posible determinar la composición bacteriana de cualquier sitio ecológico. En esta técnica, el DNA es aislado por centrifugación y posteriormente se amplifica por PCR usando primers universales de regiones conservadas de los genes 16S rRNA. Los amplicones de genes 16S rRNA se clonan en cepas de *E. coli* y los insertos clonados se secuencian para determinar la identidad especies (Hugenholtz 1996, Dewhirst 2010). El enfoque hacia 16S rRNA puede definir una especie con una amplia gama subespecies o un filotipo entero. Si se identifican con la identidad >98.5 % con la secuencia clonada. Las cepas o secuencias de clonas que tienen <98.5 % de identidad con las especies o clonas previamente definidas se consideran representantes de nuevas especies (Paster 2006, Dewhirst 2010). Sin embargo, ésta técnica consume mucho tiempo, lo que limita el número de muestras y clonas que se pueden analizar a la vez, no permite la cuantificación directa (Teles 2010).

- PCR multiplex

Esta técnica utiliza más de un par de primers específicos para cada especie. Es decir, en un solo ensayo de PCR que permite la detección simultánea de múltiples especies. Estos ensayos son muy sensibles con límites de detección de 10 a 100 células por reacción de PCR. Tales ensayos se han utilizado para detectar simultáneamente *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* y *P. gingivalis* (Tran 1999). El empleo de PCR multiplex por otro lado, puede ser un primer paso para el flanqueo de una secuencia específica de 16SrRNA para posteriormente clonar y secuenciar por técnica de Sanger, secuenciar por pirosecuenciación (Caporaso 2010), o para

identificaciones microbianas por HOMIM (Cotton IADR 2013), donde la base es la utilización de tres primers distintos que amplifican simultáneamente una región universal de 16SrRNA, y la región V4 de hipervariabilidad (Figura 6).

- PCR en tiempo real (qPCR)

Es un método útil para cuantificar el número de copias de DNA en muestras clínicas. Existen dos tipos de qPCR, un método a base de un intercalador (método de SYBR Green) y un método a base de sondas. El método basado en intercalador, intercala verde SYBR que se une al DNA de doble cadena recién sintetizado produciendo fluorescencia con un amplicón de PCR marcado. El método basado en la sonda, o PCR TaqMan, es más específica, donde se utiliza una sonda con marca fluorogénica, que se une sólo con su secuencia complementaria en la parte interna del amplicón de PCR generado. Esta técnica se ha utilizado para detectar y cuantificar varios patógenos periodontales incluyendo *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia* y el total de bacterias en muestras clínicas (Boutaga 2007).

#### Hibridación in situ de fluorescencia (FISH)

Este método se basa en la hibridación de células (figura 7) con sondas con marcas fluorescentes, lo cual es útil para cuantificar, determinar la configuración espacial de una infección celular y demostrar la morfología de las células bacterianas individuales en las comunidades naturales complejas, tales como placa dentobacteriana (Amann 1995, Zijng 2010). Básicamente, se realiza un tipo de hibridación con una sonda que lleva una marca fluorescente como es cianina 3 (Cy3), donde las sondas de oligonucleótidos son dirigidas al análisis de la fracción 16SrRNA de las células. Las tinciones filogenéticas penetran en la célula sin lisarla y se hibridan con el RNA en los ribosomas. Como los ribosomas están dispersos por la célula, ésta se vuelve fluorescente. Finalmente se visualizan los portaobjetos con las muestras mediante microscopía confocal (Zijng 2010). Utilizando hibridación in situ

fluorescente (FISH), se ha demostrado por primera vez in vivo que la formación inicial de una biopelícula, el resultado de la coagregación, y la adhesión inicial de *Streptococcus* sp. y *Actinomyces* sp. (Palmer 2003).

#### Hibridación DNA-DNA técnica de Checkerboard

En 1994, Socransky introdujo la aplicación de la técnica de Checkerboard para la detección de especies de la cavidad oral, en la cual un gran número de muestras de la placa dentobacteriana, podrían ser identificadas simultáneamente en un panel de 40 especies (figura 8), basados en el uso de sondas de genoma total bacteriano, dirigidas a microorganismos cultivados previamente (Socransky 1994). El DNA de las muestras clínicas es aislado y colocado sobre carriles de un dispositivo llamado Minislot, y fijadas en una membrana de nylon con carga positiva por medio de entrecruzamiento con luz UV y calor. Posteriormente la membrana es colocada en un miniblottter 45 con los carriles a 90° con respecto a las muestras, donde recibe a las sondas de DNA de las 40 especies bacterianas que cuentan con una marca de digoxigenina. Si las sondas con anticuerpo de digoxigenina hibridizan con la muestra, la lectura de las señales emite una luz fluorescente o quimioluminiscente, que es activada posterior a la hibridación (sonda-muestra templete). Dos carriles de control en cada ensayo contienen estándares en concentraciones de  $10^5$  y  $10^6$  células de una mezcla de cada una de las especies identificadas, para poder realizar la cuantificación de cada una, por lo que estas señales son convertidas a cuentas absolutas a partir de estándares de la misma membrana (Socransky 1994, Teles 2010). Existen dos tipos de hibridación de checkerboard, uno que utiliza sondas de DNA de genoma completo, y otro que utiliza amplicones de 16S rRNA que hibridizan con sondas basadas en 16S rRNA fijadas previamente en membranas de Nylon (Wade 1997). Actualmente se han utilizado métodos de hibridación genómica de checkerboard para responder a muchas preguntas biológicas, relacionadas con la investigación en ecología oral, para describir perfiles microbiológicos microbianos en distintas poblaciones, incluyendo la Mexicana (Almaguer 2005, Ximénez-Fyvie 2006,

Mager 2003, Teles 2010). En general, las técnicas de checkerboard se han utilizado para determinar el papel de las bacterias en la salud oral y la enfermedad, incluyendo en caries primaria y secundaria, periodontitis ulcero necrotizante, y enfermedades periodontales asociados a individuos con VIH. La particularidad de obtener semicuantificación en la técnica de genoma total, brinda la posibilidad de dar interpretaciones y asociaciones con implicación clínica. En el caso de la técnica que usa de base amplicones de 16S rRNA, tiene como ventaja que las especies que sólo se han identificado como filotipos 16S rRNA, las "no cultivables", pueden ser identificadas fácilmente como las especies cultivables en esta técnica (Paster 2006).

#### *Microarreglos del Microbioma Oral Humano (HOMIM)*

Human Oral Microbe Identification Microarray por sus siglas en inglés HOMIM, es un sistema recientemente desarrollado para la detección simultánea de la diversidad oral en un solo ensayo, basado en la impresión de oligonucleótidos de DNA derivados de la fracción 16S del rRNA en laminillas de cristal, que hibridarán con DNA amplificado por PCR de la muestra de un paciente. Éste ensayo de alto rendimiento, permite la detección simultánea alrededor de 300 especies bacterianas predominantes, e inclusive de especies que no han sido cultivadas previamente. Este sistema puede ser utilizado para comparar las asociaciones bacterianas en salud oral frente a determinadas infecciones, para vigilar los efectos de determinadas terapias sobre la ecología oral, y llevar a cabo estudios de alteración microbiana (Olsen 2009). La tecnología de HOMIM es una extensión de la técnica de Checkerboard (hibridación DNA-DNA). Se desarrolló con el fin de examinar la compleja diversidad de la microbiota oral, con una sola hibridación en las laminillas de cristal. La "captura-inversa" de sondas de oligonucleótidos de rRNA (entre 18-20pb) es sintetizada con la adición de un amino terminal en el carbono 6 (C6) 5' del oligonucleótido y cinco Timidinas espaciadoras, lo cual le permitirá hibridizar un oligonucleótido teñido con gran afinidad. Las sondas son impresas en las laminillas de cristal recubiertas con aldehído. Los genes correspondientes a la fracción 16S

rRNA son amplificados del DNA purificado las muestras microbiológicas a evaluar, con PCR múltiplex, utilizando un primer de inicio y dos de fin: y teñidas en un segundo PCR con Cy3-dCTP. Los amplicones teñidos son hibridizados con las sondas fijadas en las laminillas. Los genes 16S rRNA son amplificados por medio de la reacción en cadena de la polimerasa a partir de DNA aislado de cultivos bacterianos o muestras clínicas usando primers universales F24/Y36, y etiquetados a través de la incorporación de Cy3-dCTP en un segundo PCR. Cuando el DNA bacteriano marcado se hibrida a un lugar específico, con las sondas en la diapositiva, proporciona una señal fluorescente, que puede ser leído con un escáner láser de microarreglos (figura 9 y 10) (Preza 2008). Estas micromatrices son extremadamente útiles en los estudios clínicos que pretenden asociar especies o complejos bacterianos a estados específicos orales, sin embargo no permiten la cuantificación, además de su alto costo (Paster 2006).

#### Métodos de secuenciación

El término secuenciación se refiere a la determinación del orden preciso de los nucleótidos en una molécula de DNA (o RNA). Para la secuenciación, se sintetizan fragmento cortos de DNA con secuencias definidas, utilizadas como primers para iniciar la síntesis de cadenas nuevas de ácido nucleico (Madigan 2009).

- Secuenciación de DNA método didesoxi de Sanger

Esta metodología genera fragmentos de DNA de diferentes longitudes utilizando DNA polimerasa y sus trifosfatos desoxirribonucleósidos añadidos a un primer que está marcado con pigmentos fluorescentes y que terminan en cada una de las cuatro bases del DNA, los cuales son separados por electroforesis en un gel. Para este procedimiento son necesarias cuatro reacciones y carriles separados para la determinación de cada secuencia, una para cada fragmento terminado en cada una de las cuatro bases del DNA: adenina, guanina, citosina y timina. Las posiciones de los fragmentos se localizan por autorradiografía o fluorescencia y las secuencias

pueden ser leídas en el mismo gel, mediante la alineación de los cuatro carriles de dideoxinucleótidos y la localización vertical de cada fragmento respecto a su aproximado (figura 11) (Madigan 2009).

- Secuenciación de nueva generación Pirosecuenciación 454

La secuenciación de nueva generación (NGS), es la tecnología más reciente y de mayor rendimiento para el análisis genómico microbiano, con una cobertura más profunda y de menor costo, por la alta sensibilidad de la técnica (Teles 2010), utiliza una plataforma de pirosecuenciación 454, que elimina la necesidad de clonación previa, y se secuencía mediante la amplificación de una molécula de DNA única. El DNA es fragmentado y amplificado con adaptadores especiales en una emulsión de PCR que se unen a una perla de agarosa. Esta amplificación produce hasta 1 millón de copias en todo un ensayo, permitiendo lecturas de 400,000 fragmentos de DNA, cada uno de aproximadamente 250 y 500pb de longitud. La base es la incorporación de una ligasa y oligonucleótidos universales para su amplificación (Paster 2009). En la actualidad, esta técnica está siendo utilizada de rutina por su alto rendimiento y costo, y este último motivo es que se llevará a la migración completa de esta tecnología, para la identificación del Microbioma Oral Humano, a pesar de que no es la mejor técnica para el estudio de asociaciones con infecciones endógenas microbianas, ya que no permite la cuantificación de la muestra original.

### **ÁRBOLES FILOGENÉTICOS DE LA CAVIDAD ORAL**

Actualmente existe una base de datos del microbioma oral humano (HOMD) que incluye 688 distintos "Taxa". El término "Taxa" es frecuentemente utilizado en la descripción de grupos bacterianos con similitudes taxonómicas, se refiere a especies pertenecientes a filotipos, similares de su fracción 16S rRNA, y que no pueden ser nombrados con la nomenclatura oficial ya que para ello requerirían ser crecidas y caracterizadas fenotípicamente. Por lo cual, deriva la necesidad en establecer un sistema de denominación provisional de especies/filotipos del

microbioma humano, por lo que los investigadores y la literatura pueden señalar el nombre provisional de “Taxa” en lugar de secuencias de clonas (Dewhirst 2010). A cada “Taxa” se le asigna un número de taxón oral humano (HOT), el cual es un número arbitrario a partir de 001. El 50% de los HOT corresponde a especies nombradas oficialmente (N=344), el 15% sin asignación de nombre (N=102), y el 35% con asociación en distintos filotipos (N=244) (HOMD 2014). Antes de la asignación, todas las secuencias provisionales se comparan en base a las secuencias que tienen mayor de 98.5% de similitud, lo cuales se fusionan en una sola Taxa, a excepción de las especies válidamente con nombre que conservan sus número HOT individuales. Las clonas que no cumplen con los criterios de coincidencia se agrupan en un nuevo rango taxonómico. La agrupación se realiza primero mediante la clasificación de las clonas por la longitud. La primer clona se coloca en una carpeta como primero taxón, y su secuencia se toma de una secuencia de referencia. Cada secuencia de una clona subsiguiente, se compara a la secuencia de referencia, y si corresponde es sumado a esa carpeta de Taxa (Dewhirst 2010). La base HOMD se encuentra organizada en 13 principales “Phylum” o reinos, de la siguiente manera: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chloroflexi*, *Euryarchaeota*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, SR1, *Synergistetes*, *Tenericutes* y TM7 (Dewhirst, 2010).

### **Principales Phylum del árbol filogenético oral humano**

Los seis principales “Phylum” del microbioma oral humano, incluyen: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes* y *Fusobacteria*, contiene el 96% de los “Taxa”. Los “Phylum” restantes, *Euryarchaeota*, *Chlamydia*, *Chloroflexi*, SR1, *Synergistetes*, *Tenericutes* y TM7, contienen el 4% de los “Taxa” restantes (Dewhirst 2010). La distribución filogenética de estos “Taxa” se presenta en la figura 12.

### Firmicutes

Dentro de este *Phylum* (tabla 1a, 1b) existen dos principales clases donde se encuentran comprendidas la mayor parte de las especies, que son la clase *Bacilli* y *Clostridia*. La clase *Bacilli*, comprende los géneros *Streptococcus*, *Gemella*, *Granulicatella*, *Abiotrophia*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Selenomonas*, *Veillonella*, *Dialister*, *Lactobacillus*, *Lachnospiraceae*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcaceae*, *Oribacterium*, *Megasphaera* y especies como *Staphylococcus aureus* HOT-550, *Filifacto alocis* HOT-539. El género *Streptococcus*, cuyos miembros son las especies bacterianas más abundantes en cavidad oral (tabla 1c), en el cual pueden encontrarse en tejidos blandos especies como *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus constellatus* (Mager 2003), *Streptococcus vestibularis* (Doyuk 2002); en superficie dental *Streptococcus infantis* (Kawamura 1998), *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus gordonii* (Mager 2003), *Streptococcus downei* (Yoo 2005); en caries dental *Streptococcus cristatus*, *S. mutans* (Tanner 2011), *Streptococcus mitis* bv2 (Gross 2010), *Streptococcus parasanguinis* (Mager 2003), *Streptococcus sobrinus* (Okada 2012); en saliva *Streptococcus australis* (Warburton 2013); en enfermedad periodontal *Streptococcus parasanguinis* I HOT-721, *Streptococcus parasanguinis* II HOT-411 y *Streptococcus* sp. HOT-057 (Fine 2013); así como especies estudiadas con menor frecuencia pero también comunes relacionados con estados de maduración de la placa dental son: *Gemella morbillorum*, *Gemella haemolysans* HOT-626, *Gemella sanguinis* HOT-757 (Pushalkar 2012), y especies de *Granulicatella adiacens* HOT-534 (Colombo 2009), *Granulicatella elegans* HOT-596 (Kanasi 2010); en caries en la infancia *Abiotrophia defectiva* (Kanasi 2010); *Enterococcus faecalis* (Colombo 2002), y especies del género *Lactobacillus* como *Lactobacillus acidophilus* (Yip 2007), *Lactobacillus gasseri* HOT-615, *Lactobacillus johnsonii* HOT-819 (Gross 2010), *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus fermentum* (Lima 2012) (figura 13).

Dentro de las principales familias de la clase *Clostridia*, que contienen la gran mayoría de “Taxa” son: *Lachnospiraceae*, *Peptostreptococcaceae* y *Veillonellaceae*. Todos los miembros de *Veillonellaceae* (figura 14), son Gram negativos e incluyen las especies *Anaeroglobus germinatus*, *Dialister invisus* (Colombo 2009), *Dialister pneumosintes* (Slots 2010), *Megasphaera* sp. HOT-123 (Teles 2013), el género *Selenomonas* que incluye especies como *Selenomonas infelix*, *Selenomonas noxia*, *Selenomonas* sp. HOT 133, 149, 136, 478, 138, *Selenomonas artemidis* (Colombo 2009, 2012), *Selenomonas sputigena*, *Selenomonas flueggei* (Tyrrell 2003), *Selenomonas diana* (Goncalves 2012), *Selenomonas* sp. HOT-146, *Selenomonas* sp. EW076, *Selenomonas* HOT-149, *Selenomonas* sp. P2PA\_80, y *Selenomonas* sp. cepa GAA14 predominante en periodontitis (Faveri 2008); así como de *Veillonella atypica* (Colombo 2009), *Veillonella parvula*, *Veillonella dispar* (Casarin 2012, Tanner 2011) y *Veillonella* sp. HOT 780 (Teles 2013).

Por otro lado, en la clase *Peptostreptococcaceae* se encuentran las especies *Parvimonas micra*, *Peptostreptococcaceae* sp. HOT-113 (Colombo 2009), *Eubacterium saphenum* HOT-759, *Eubacterium nodatum* HOT-694, *Eubacterium brachy* HOT-557 (Tamura 2013), *Mogibacterium timidum* (Casarin 2012) y *Peptostreptococcus stomatis* (Pushalkar 2012).

La clase *Erysipelotrichia* contiene los siguientes cuatro organismos orales: *Bulleidia extructa* (Paster 2002), *Solobacterium moorei* (Magger 2003), *Erysipelothrix tonsillarum* y *Lactobacillus* [XVII] *catenaformis* (Dewhirst 2010).

### Actinobacteria

El *Phylum Actinobacteria* (figura 15, tabla 2a, 2b) comprende orden *Actinomycetales*, *Bifidobacteriales* y el orden *Coriobacteriales*. El orden *Actinomycetales* incluye los géneros *Actinomyces*, *Atopobium*, *Rothia*, *Propionibacterium* y *Corynebacterium*. Estos géneros se encuentran principalmente en la caries dental, placa dental y enfermedades periodontales (tabla 2c). El género

*Actinomyces* se integra de especies de *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces georgiae* (Ximénez-Fyvie 2003), *Actinomyces naeslundii* (Mager 2003), *Actinomyces gerencseriae* (Tanner 2011), *Actinomyces viscosus* (Sarkonen 2000), *Actinomyces* sp. HOT-170, *Actinomyces meyeri* (Brito 2012) y *Actinomyces israelii* (Johnson 1999). *Rothia* con especies de *Rothia dentocariosa* y *Rothia mucilaginoso* (Munson 2004, Colombo 2009). *Propionibacterium* con especies como *Propionibacterium acidifaciens*, *Propionibacterium acnes* y *Propionibacterium propionicum* (Wolff 2013, Silva-Boghossian 2013, Tek 2013). El orden *Bifidobacteriales* incluye los géneros *Bifidobacterium*, *Parascardovia* y especies de *Scardovia inopinata* y *Scardovia wiggisiae* (Tanner 2011). El orden *Coriobacteriales* incluye los géneros relacionados *Olsenella*, especies como *Slackia exigua* (Tanner 2011); y el género *Atopobium* con especies relacionadas con el putativo periodontal *Atopobium rimae* y *Atopobium parvulum* (Colombo 2009).

#### Fusobacteria

Incluye dos géneros detectados con frecuencia en la cavidad oral (Figura 15, tabla 3a, 3b): *Fusobacterium* dentro del cual se encuentran especies como *Fusobacterium periodonticum*, *Fusobacterium nucleatum* subsp. *vincentii*, *Fusobacterium nabiforme* (Socransky 2005) y *Fusobacterium nucleatum* subsp. *polymorphum* (Preza 2008) comúnmente relacionados con enfermedades periodontales, halitosis y caries radicular; y el género *Leptotrichia* en el cual se encuentra *Leptotrichia buccalis* HOT-563 relacionada a gingivitis (figura 3c)(Socransky 2005).

#### Bacteroidetes

Contiene 107 "Taxa", los cuales caen en los géneros *Prevotella*, *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Tannerella*, *Bergeyella*, *Capnocytophaga* y ocho sin nombre (figura 16, tabla 4a, 4b). *Prevotella* es el género más grande, con aproximadamente 50 especies, siendo la mayoría cultivables, entre ellas *Prevotella melaninogenica*, *P. intermedia*, *Prevotella nigrecens*, *Prevotella* sp., *Prevotella loescheii*, *Prevotella*

*denticola* y una bacteria no cultivable de *Prevotella* sp. HOT 306, *Prevotella buccae*, *Prevotella dentalis*, *Prevotella oris*, *Prevotella oulora*, *Prevotella pallens* y *Prevotella salivae*. En el género *Tannerella* se encuentran especies de *T. forsythia*, *Tannerella* sp. HOT-286 El género *Porphyromonas* contienen especies de *P. gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas catoniae* y *Porphyromonas asaccharolytica*. El género *Capnocytophaga* con especies de *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga granulosa*, *Capnocytophaga leadbetteri*, *Capnocytophaga ochracea* y *Capnocytophaga sputigena*. Así mismo géneros en su mayoría con especies no cultivables como *Flavobacteriales*, *Bergeyella* y *Bacteroidetes* [G-2] sp. OT 274, *Bacteroidaceae* [G-1] sp. HOT-272 (HOMD 2014).

### Proteobacteria

Las cinco clases de *Proteobacteria*: *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria* y *Epsilonproteobacteria* (tabla 5a, 5b), contienen tipos de “Taxa” detectadas en la cavidad oral humana (tabla 5c). La clase *Alphaproteobacteria* incluye especies como *Brevundimonas diminuta* y *Ochrobactrum anthropi*; la clase *Betaproteobacteria* incluyen las especies *Eikenella corrodens*, *Kingella denitrificans*, *Kingella oralis*, *Lautropia mirabilis*, *Neisseria elongata*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria mucosa* y *Neisseria oralis*; la clase *Gammaproteobacteria* incluye las especies *Acinetobacter baumannii*, *A. actinomycetemcomitans*, *Aggregatibacter segnis*, *Cardiobacterium hominis*, *E. coli* y *Haemophilus parainfluenzae*; y finalmente la clase *Epsilonproteobacteria* las especies *Campylobacter concisus*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter curvus*, *Campylobacter gracilis* y *Campylobacter showae* (HOMD 2014).

### Spirochaetes

Todos los “Taxa” orales humanos identificados hasta la fecha dentro de este *Phylum* son miembros del género *Treponema* (figura 17, tabla 6a), siendo las más representativa *T. denticola*, *Treponema* sp. HOT-230, *Treponema socranskii*, *Treponema maltophilum*, *Treponema lecithinolyticum*, *Treponema putidum*,

*Treponema parvum* y *Treponema medium* involucrados en enfermedades periodontales e infecciones endodónticas (tabla 6b) (Colombo 2009, Rocas 2005, Wyss 1999). Más del 70 % de los 49 “Taxa” identificados hasta ahora no han podido ser cultivados (Dewhirst 2010).

#### Tenericutes

Especies de *Mycoplasma*, se han encontrado en saliva de 97% de los individuos, siendo *Mycoplasma salivarium*, *Mycoplasma hominis*, y *Mycoplasma faucium* los más representativos (figura 13) (Dewhirst 2010).

#### Phylum TM7 y Synergistetes

Todos sus miembros son bacterias no cultivables (Dewhirst, 2010).

Dentro del *Phylum* TM7 (tabla 7a) se han podido identificar especies fuertemente relacionadas a enfermedades periodontales (tabla 7b) como son TM7 [G-5] sp. HOT 356, TM7 [G-1] sp. HOT 346, TM7 [G-1] sp. HOT-349 (Colombo 2009, Teles 2013), TM7 [G-5] sp. HOT-437 y TM7 [G-1] sp. HOT-347 (Griffen 2012) (Figura 17).

Especies no cultivables de *Synergistetes*, se han detectado en la capa externa de la biopelícula subgingival mediante técnicas de hibridación in situ, resultando ser nueva con un posible papel importante en la interacción huésped-patógeno debido a su localización en estrecha proximidad a las células inmunes (Chakravorty 2007).

## **ASOCIACIÓN BACTERIANA EN LOS ESTADOS DE SALUD Y ENFERMEDAD ORAL**

### **Asociaciones bacterianas en la cavidad oral**

Los microorganismos que se encuentran en la cavidad oral humana conforman la microflora o microbioma oral humano, refiriéndose a una comunidad ecológica comensal, simbiótica y microorganismos potencialmente patógenos que comparten un espacio corporal (Lederberg 2001). Cada sitio en la cavidad oral humana tiene un perfil microbiano distintivo, que incluye varias especies bacterianas, incluyendo

aquellas que no se pueden cultivar. Estos perfiles sufren un cambio según el estado de salud y enfermedad en el que se encuentre, por lo tanto un medio rápido y preciso de identificación del microbioma oral humano es crucial para llevar a cabo la investigación clínica significativa (Paster 2009, Dewhirst 2010).

Las biopelículas orales son microcolonias o comunidades bacterianas adheridas a una superficie sólida como el esmalte dental, la superficie de las raíces, incluso en tejidos blandos y mucosa sana, y están embebidas en una matriz de exopolisacárido nombrada glicocálix (Costerton 1999, Socransky 2002). Se caracterizan por crear microambiente heterogéneos dentro de su estructura, determinados por los gradientes de nutrientes, oxígeno y desechos metabólicos que proporcionan las condiciones de crecimiento para múltiples especies y diferentes cepas de la misma especie con rasgos fenotípicos distintos (Bernard 2012). Se reconoce que más de 65% de todas las infecciones bacterianas en seres humanos se asocian con las biopelículas (Lewis 2001).

En 1998, Socransky y colaboradores propusieron que las enfermedades orales podrían ser mejor entendidas centrándose en los consorcios de organismos en lugar de sobre los patógenos individuales utilizando ensayos de hibridación de Checkerboard, identificando cinco grupos de bacterias o complejos (figura 18), que se encontraron en varias ocasiones asociados en periodontitis. Sugiriendo que el complejo más patogénico se encuentra comprendido por *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola* (complejo rojo) y dependían de la colonización puente por un complejo de organismos menos patógenos, llamado complejo naranja (Socransky 1998), dándose la interacción de los agentes patógenos y los organismos comensales dentro de la cavidad oral, para formar parte integral del desarrollo de la placa y conducir a la maduración de la misma. Estas interacciones se producen a nivel físico, metabólico, señales de comunicación e intercambio de material genético (Kolenbrander 2006). Una característica principal de las bacterias orales es su capacidad de coagregación con otras bacterias genéticamente distintas, descubierto

por Gibbons y Nigaard en el año 1970 entre las bacterias de la placa dental. Las interacciones entre las bacterias orales son parte integral del desarrollo de la placa (figura 19), y están mediadas por uno o más conjuntos de pares complementarios adhesina-receptor de superficie (Kolenbrander 2006).

En un estudio realizado por Abusleme et al., se llevó a cabo el desarrollo de un modelo para referenciar los cambios ecológicos en la estructura de la comunidad subgingival desde la salud a la enfermedad (figura 20) encontrando, que algunos “Taxa” se encuentran altamente prevalentes en salud o enfermedad, mientras que otros, se encuentran igualmente frecuentes y abundantes en ambas condiciones. En este último es definido como microbioma subgingival núcleo, en el cual se consideran dos “Taxa” estrechamente relacionados con *F. nucleatum*, siendo los principales miembros más abundantes, mientras que otros 11 “Taxa” son menos abundantes, pero se encuentran presentes en la mayoría de los sujetos, independientemente del estado de salud del sitio oral. Los “Taxa” asociados con salud incluyen cinco: *Actinomyces* sp., *Streptococcus* sp. estrechamente relacionados con *Streptococcus sanguinis*, *Proteobacteria* y *Porphyromonas* sp. estrechamente relacionadas con *P. catoniae*; y finalmente los “Taxa” presentes en periodontitis comprendiendo *Treponema* sp., y un taxón del *Phylum* TM7 dominando numéricamente las comunidades. Sin embargo, una amplia variedad de “Taxa” también son asociados con periodontitis, incluyendo otra especie de *Treponema* sp., TM7 sp., varios *Bacteroidetes*, *Synergistetes*, *Chloroflexi* y un gran número de “Taxa” de la clase *Clostridios* del *Phylum Firmicutes* (Abusleme 2013).

Los estudios y proyectos realizados sobre secuenciación a gran escala de genes 16S rRNA (Paster 2001), previamente amplificados y clonados, a partir de muestras de varios sitios de la cavidad oral, como son: dorso de la lengua, partes laterales de la lengua, epitelio bucal, paladar duro, paladar blando, placa supragingival de las superficies dentales, placa subgingival, vestíbulo maxilar anterior y amígdalas (Aas 2005) comienzan a demostrar las asociaciones de especies bacterianas específicas

con estados de salud y enfermedad. Sin embargo, las técnicas adecuadas para los estudios clínicos a gran escala de las asociaciones bacterianas, incluyen ensayos de hibridación de Checkerboard o los ensayos de microarreglos de DNA (Paster 1998).

### **Distribución de las especies bacterianas en la cavidad oral**

Estudios recientes definen la diversidad bacteriana de la cavidad oral humana saludable, mediante la examinación de diversos sitios. Los miembros de los géneros *Gemella*, *Granulicatella*, *Streptococcus* y *Veillonella*, son comunes a todos los sitios. Sin embargo, muchas especies son específicas de un sitio, como es *R. dentocariosa*, *Actinomyces* sp., *S. sanguinis*, *S. gordonii* y *A. defectiva* detectados en placa supragingival y *S. salivarius* en dorso de la lengua (figura 21) (Aas 2005).

#### Tejidos blandos y saliva

La proporción de especies bacterianas difieren marcadamente en las distintas superficies intraorales. En los estudios de Mager et al. 2003, sobre los perfiles microbianos de 8 superficies bucales de tejidos blandos y saliva, utilizando el método de identificación de checkerboard, obtuvieron que los perfiles microbianos diferían notablemente entre los diversos sitios de la cavidad oral (figura 22). Las proporciones de *V. parvula*, *P. melaninogenica*, *E. corrodens*, *N. mucosa*, *Actinomyces odontolyticus*, *F. periodonticum*, *F. nucleatum* subsp. *vincentii*, *P. gingivali* y *S. salivarius* se encuentran en proporciones significativamente mayores en saliva, superficies laterales y dorsales de la lengua, mientras que *S. mitis*, *S. oralis*, *S. noxia*, *G. morbillorum*, *C. gingivalis* y *S. constellatus* se presentan en porcentajes significativamente mayores en piso de boca, paladar duro, vestíbulo anterior, superficie ventral lingual, mucosa labial y encía adherida. Así mismo, se han encontrado que especies como *S. sanguinis*, pueden colonizar tejidos tanto duros y blandos (Mager 2003).

### Placa supra gingival y subgingival

La placa dental se definió por primera vez por James Leon Williams en 1897, quien la describió como una acumulación de consistencia gelatinosa de bacterias, que se adhiere a la superficie del diente y tiene relación con el desarrollo de caries dental (Carranza 2003). La comunidad microbiana en la placa subgingival y supragingival de sujetos sanos y periodontitis, albergaban proporciones significativamente mayores de las especies de *Actinomyces* (Mager 2003), como es *A. naeslundii* stp. 1, *A. naeslundii* stp. 2, *A. israelii*, *A. gerencseriae*; y *A. odontolyticus* puede encontrarse en mayor prevalencia en sujetos periodontalmente sanos. Sin embargo, *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola* podría ser detectada en placa supragingival de sujetos sanos y periodontitis (Ximenez-Fyvie 2000, Ximénez 2006). En relación a especies de *Streptococcus*, estas especies se encuentran distribuidas en proporciones distintas en los diferentes sitios de la cavidad oral. Especies de *S. sanguinis*, *S. anginosus*, *S. intermedius* y *S. gordonii* colonizan las superficies dentales en proporciones comparables a las ubicaciones de los tejidos blandos y la saliva (Mager 2003).

Diversos estudios realizados a través de la técnica de checkerboard, han identificado *Streptococcus* sp., *A. naeslundii* (Mager 2003), *E. corrodens*, *N. mucosa* (Socransky 1994), así como filotipos de los géneros, *Gemella*, *Granilicatella*, *Prevotella*, *Rothia*, *Veillonella*, *Corynebacterium* y especies no cultivadas de la clase *Clostridia* a lo largo de la maduración de la placa dentobacteriana (Li 2004). La comunidad microbiana subgingival predominante comprende aproximadamente entre 347-400 especies/filotipos (Olsen 2009, Paster 2006) que corresponden a los *Phylum Firmicutes* (ejemplo, *Streptococcus*), *Fusobacterias*, *Actinobacteria* (ejemplo, *Actinomyces*), *Synergistes* (especies no cultivables), *Spirochates* (ejemplo, *Treponema*), *Proteobacteria* (ejemplo, *A. actinomycetemcomitans*, *Neisseria* y *Eikenella*), TM7 (especies no cultivables), y *Bacteroidetes* (por ejemplo, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *Prevotella* sp.) (Paster 2001). La figura 23 representa 69 de las especies

más predominantes, de las cuales 16 aún no han sido cultivadas y dos están sin nombre, siendo cepas no caracterizadas. Las principales diferencias entre placa supra y subgingival, entre la salud y enfermedad periodontal (Ximenez-Fyvie 2000). En condiciones de salud periodontal, dos filotipos no cultivables, *Fretibacterium fastidiosum* (Vartoukian 2012) y *Tannerella* sp. HOT 286, un taxón no cultivado, se encuentran más frecuentes (Leys 2002), así como *A. rimae* y *A. parvulum* (Kumar 2003).

### Halitosis

Los estudios sobre halitosis han contribuido a la comprensión de la colonización microbiana de los tejidos blandos de la boca, en particular el dorso de la lengua, encontrando una amplia gama de especies, incluyendo: *T. denticola*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. melaninogenica*, *P. intermedia*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Rothia*, *Capnocytophaga*, *Actinomyces* sp. (Mager, 2003), *A. parvulum*, *Dialister* clona BS095 (ahora *D. invisus*), *Eubacterium surcos*, TM7 [G-1] sp. HOT 352, *S. moorei* y *Streptococcus* clona BW009. Mientras que en dorso de la lengua de sujetos sanos pueden encontrarse especies de *S. salivarius*, *R. mucilaginosa* y *Eubacterium* cepa FTB41 (Karzor 2003). Por lo tanto, se sabe que los tejidos blandos pueden servir como reservorios de la infección o reinfección del periodonto (Mager, 2003).

### Enfermedades periodontales

Las enfermedades periodontales son infecciones endógenas mixtas causadas por microorganismos que colonizan la superficie dental y la bolsa periodontal, formando una estructura compleja llamada biopelícula, y llevan a la destrucción de los tejidos de soporte del diente (Costerton 1999).

A partir de diversos estudios, se han identificado dentro la microbiota de la placa subgingival de patógenos periodontales incluyendo *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola* (Socransky 1998), así como de patógenos putativos como *A.*

*actinomycetemcomitans*, *P. melaninogenica*, *E. corrodens*, *P. nigrescens*, *C. gingivalis*, *T. socranskii*, *E. nodatum* y *C. rectus* (Haffajee 2004, Haffajee 2006, Ximénez-Fyvie 2000). De igual forma, se han reportado otras diversas especies asociadas a las enfermedades periodontales, que incluyen: *F. alocis* y *Cryptobacterium curtum* (Kumar 2003); *E. saphenum* y *M. timidum* (Mayanagi 2004); *Prevotella corporis*, *Prevotella disiens* y *Peptostreptococcus magnus* (Salari 2004); *S. exigua* (Booth 2004); *T. maltophilum*, *T. lecithinolyticum* (Wyss 1999); *T. putidum* sp. nov. (Wyss 2004), *E. faecalis*, *E. coli* y *Bartonella* sp. (Colombo 2002). Dentro de los “Taxa” no cultivables encontrados en sitios con periodontitis se incluyen *Treponema* sp. HOT 230, TM7 HOT 437 y 349 (Griffen 2012), TM7 sp. HOT 346 y 349, *Desulfobulbus* sp. HOT 041, *Treponema* sp. HOT 245, 256 y 508, TM7 sp. HOT 356 y 437 y *Synergistetes* sp. HOT 360, 362 y 453. Además *F. nucleatum*, *Haemophilus* sp. HOT 035 y 036, *Eubacterium* sp. HOT 081, *Megaesphaera* sp. HOT 123 y *Acidaminococcaceae* sp. HOT 135, 148, y tipos de “Taxa” cultivados sin nombre, como *Veillonella* sp. HOT 780 (Teles 2013).

En el desarrollo de la gingivitis, el uso técnicas de Checkerboard, ha podido detectar especies de *Actinomyces*, *V. parvula* (complejo púrpura), *C. gingivalis*, *C. ochracea*, *C. sputigena* (complejo verde), *C. rectus*, *C. showae*, *F. nucleatum* subsp. *polymorphum*, *F. nucleatum* subsp. *vincentii*, *Fusobacterium periodonticum*, *P. nigrescens* (complejo de naranja), *Leptotrichia buccalis*, *Propionibacterium acnes* y *S. noxia* (figura 21). Los niveles de especies del complejo rojo como *P. gingivalis* pueden variar de acuerdo al sitio de inflamación y sangrado en sujetos con periodontitis (Socransky 2005).

Específicamente, en periodontitis agresiva, se han identificado diversas especies de *Selenomonas* y *Streptococcus*. *S. sputigena* en mayor prevalencia, *S. noxia*, *Selenomonas* sp. EW084, *Selenomonas* sp. EW076, *Selenomonas* FT050, *Selenomonas* sp. P2PA\_80, y *Selenomonas* sp. cepa GAA14 en niveles menores (Faveri 2008). Un estudio reciente en la descripción de la microbiota subgingival de

sujetos con periodontitis agresiva localizada, ha indicado la participación de *A. actinomycetemcomitans*, en consorcio con *Streptococcus parasanguinis* y *Filifactor alocis* en este tipo de periodontitis. Queriendo decir que la patogénesis de *A. actinomycetemcomitans* en esta enfermedad, se da siempre y cuando se encuentre en asociación (colonización) de las otras dos especies bacterianas, como una especie de sinergismo fuertemente asociado con una pérdida ósea. Así mismo, la periodontitis agresiva localizada, se produce en sujetos que son distintos según la edad y origen étnico (Fine 2013).

Por otra parte, en periodontitis crónica, se han identificado perfiles microbianos particulares, donde las proporciones y niveles de *Actinomyces* sp. disminuyen y especies predominantes del complejo rojo aumentan proporcionalmente con respecto a sujetos con salud periodontal, esto es conforme va aumentando el estado de periodontitis, y ha sido demostrado en distintas poblaciones del mundo, inclusive la mexicana (Haffajee 2004, Ximénez 2006). Por otro lado, han habido observaciones de asociaciones bacterianas, en especies nuevas y filotipos como clonas no cultivables *Deferribacterium* D084 y BHO17, *Bacteroidetes* HOT 274, *Megasphaera* BB166 clona, OP11 clona X112, y TM7 HOT 356, así como especies *E. saphenum*, *P. endodontalis*, *P. denticola*, *Cryptobacterium curtum* (Kumar 2003), TM7 sp. OT 346, *Prevotella* sp. HOT 306, *Mitsuokella* sp. OT 131, *F. nucleatum* subsp. *polymorphum*, *P. micra*, *P. intermedia* y *A. gerencseriae*, se encuentran de forma predominante (Teles 2010). Los porcentajes de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *E. nodatum*, *P. intermedia* y *P. nigrescens* van en aumento de acuerdo a la gravedad de la enfermedad, y en contraste, *A. naeslundii*, *C. gingivalis*, *N. mucosa*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguinis* y *V. parvula* se encuentran mayormente asociados con salud y estabilidad periodontal, disminuyendo su porcentaje a medida que va en aumento la enfermedad (Moore 1994).

### Periodontitis ulcerosa necrosante (PUN)

A través de ensayos de hibridación DNA-DNA de checkerboard, se han identificado con mayor frecuencia especies como *B. extructa*, *Dialister*, *F. nucleatum*, *Selenomonas*, *Peptostreptococcus*, *Veillonella*, y algunos miembros del Phylum TM7 (Paster 2002). Dentro de un estudio sobre especies bacterianas asociadas con periodontitis en sujetos VIH positivo, se encontraron que patógenos periodontales clásicos no están involucrados y especies de *Gemella*, *Dialister*, *Streptococcus* y *Veillonella* eran dominantes, siendo probable que ésta, sea una infección oportunista en un huésped severamente comprometido (Aas 2007).

### Caries en dientes temporales y permanentes

El tipo de colonización microbiana relacionada con caries dental, se le ha atribuido a un concepto llamado “ventana de infectividad”. Este concepto se atribuye ya que dependiendo de la exposición que tiene un individuo a determinada microbiota desde su nacimiento, es que puedan adquirir determinada flora en determinada edad. Un ejemplo es la descripción de la colonización de especies de *Actinomyces* en distintas edades en meses de los infantes, y dónde describen con claridad la colonización temprana de *A. odontolyticus* en las superficies de la mucosa oral en los bebés de hasta 2 años de edad, aumentando notablemente de los 2 a los 6 meses de edad; sin embargo, la predominancia de otras especies conforme va creciendo el individuo, y conforme va teniendo erupción dental también se reflejan y se vuelve más compleja. *A. naeslundii* es la segunda especie más común detectada a partir del primer año de edad, la cual también va en aumento junto con *A viscosus* y *A. gerencseriae* La relación entre determinadas especies de *Actinomyces* y caries en dientes deciduos, ha sido ampliamente demostrada (Sarkonen 2000).

Mediante identificación molecular bacteriana, se han podido identificar especies/filotipos como *S. sanguinis* que se asocia con salud, mientras que *A. gerencseriae*, *Bifidobacterium* sp., *S. mutans*, *Veillonella* sp., *S. salivarius*, *S. constellatus*, *S. parasanguinis* y *Lactobacillus fermentum* se asocian comúnmente

con caries en la infancia (Becker 2002). El uso de ensayos de checkerboard de captura inversa, han permitido la detección de comunidades bacterianas diversas, incluyendo *S. mutans*, *Lactobacillus* sp., *R. dentocariosa*, *Propionibacterium* spp (Munson 2004), especies del género *Atopobium* sp., *Actinomyces*, así como los géneros *Prevotella*, *Selenomonas*, *Dialister*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Olsenella*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, y *Pseudoramibacter* en caries avanzada en adultos (Chour 2005).

#### Caries radicular

Se ha encontrado por medio de secuenciación de genes 16S rRNA, que especies de *Selenomonas* y *Veillonella* son comunes en placa supragingival en raíces con y sin caries. Sin embargo, *F. nucleatum* subsp. *polymorphum*, *Leptotrichia* sp., *S. noxia*, *S. cristatus* y *K. oralis* fueron característicos colonizadores de las superficies radiculares. Por el contrario, *Actinomyces* sp., *Lactobacillus* sp., *S. mutans*, *E. faecalis*, *Selenomonas* sp. clona CS002 , *Atopobium* y *Olsenella* sp., *Pseudoramibacter alactolyticus* y *Propionibacterium* sp. FMA5 dominaron en el perfil de caries radicular (Preza 2008).

## DISCUSIÓN

La amplitud de la diversidad bacteriana en la cavidad oral, es verdaderamente notable con 688 especies bacterianas identificadas en la base de datos HOMD, de las cuales entre el 35-50% de estas especies aún nos han sido cultivadas. Sin embargo dentro de esta gran diversidad bacteriana, alrededor de 400 especies se han detectado sólo surco gingival (Dewhirst 2010), lo cual nos hace pensar en la diversidad específica de dicha biopelícula, sin contar la colonización bacteriana en otras superficies de la cavidad oral. Es probable que el segmento sin cultivar de la microbiota, albergue especies patógenas así como especies benéficas. Cada sitio en la cavidad oral comprende un perfil microbiano distintivo que se ve modificado en relación al equilibrio ecológico que se mantiene en un estado de salud, así como el encontrado en un estado de enfermedad. Es de destacar, el hecho de que tanto las especies cultivables como no cultivables, se encuentran implicadas en el equilibrio del estado de salud de un individuo, así como en diversos padecimientos de infecciones intraorales tales como enfermedad periodontal, gingivitis, infecciones endodónticas, caries dental y radicular, halitosis, peri-implantitis (Paster 2006). Por otro lado, a pesar de que muchas de estas especies son compatibles con salud en su hábitat en cavidad oral, pueden estar relacionadas con infecciones extraorales severas o inclusive sistémicas tales como bacteremias, endocarditis, abscesos cerebrales, meningitis, fibrosis quística, artritis reumatoide entre otras (Paster 2006). Datos contenidos en las tablas del material complementario del presente trabajo.

Las técnicas basadas en métodos de identificación molecular se han utilizado para identificar bacterias directamente a partir de muestras clínicas eludiendo la necesidad de cultivos *in vitro* (Paster 2009), Las técnicas de PCR, han sido enfocadas como una estrategia dirigida a la determinación de secuencia de genes, principalmente en la fracción 16S rRNA, lo cual hace posible determinar la

composición y diversidad bacteriana de cualquier sitio ecológico (Olsen 2009), y son la base para realizar otro tipo de técnicas moleculares como son HOMIM, secuenciación de genes 16S rRNA, checkerboard, hibridación in-situ, etc., siendo éstas, un arma en beneficio para la identificación bacteriana independientemente de si los microorganismos son cultivables o no cultivables (Kolenbrander 2006, Dewhirst 2010), lo cual puede llevar a encontrar el seguimiento de las infecciones microbianas y determinar la resistencia antimicrobiana que es un punto importante en la actualidad (Zijng 2010). Sin embargo, la mayoría de las técnicas no permiten la cuantificación directa de los niveles de múltiples especies no cultivadas, por lo cual tienen que permanecer las técnicas fenotípicas de la “microbiología tradicional” para su descripción. El método base en la hibridación in situ de células, es útil para cuantificar, determinar la configuración espacial, y demostrar la morfología de las células bacterianas individuales en las comunidades naturales complejas, tales como la placa dental (Zijng 2010).

Por otro lado, la utilización de determinada técnica molecular, es enfocada a las necesidades del investigador. Actualmente la Secuenciación de nueva generación (NGS), es un método que ha superado las capacidades de clonación, permitiendo una cobertura más profunda y menos secuenciación de las comunidades microbianas (Teles 2010). Sin embargo se va a tener la necesidad de seguir realizando técnicas moleculares que nos permitan una semi-cuantificación y por lo tanto conocer una implicación clínica más profunda, como lo es la técnica de Checkerboard, o se va a seguir con la necesidad de conocer características de resistencia a antibióticos, con lo cual el cultivo bacteriano es indispensable. Debido a las diferencias de la naturaleza específica de cada sitio en cavidad oral entre la salud y la enfermedad oral, antes y después de una terapia, la cuantificación bacteriana de las muestras individuales es necesaria y es un poderoso primer paso en la discriminación de los agentes patógenos (Teles 2010). La técnica de checkerboard es de gran uso para la detección de especies específicas conocidas, que desean ser

identificadas y relacionadas, respondiendo a muchas preguntas biológicas, relacionadas con la investigación en ecología oral, así como determinar el papel de las bacterias en la salud oral y la enfermedad; ésta técnica permite la cuantificación de cada especie gracias a los dos carriles de control que contienen estándares (Mager 2003, Paster 2009). El método de HOMIM, puede ser utilizado para comparar las asociaciones bacterianas en la salud frente a la enfermedad, mediante la identificación de alrededor 300 de las especies bacterianas orales predominantes, incluyendo las que aún no se puede cultivar *in vitro*. Dentro de ella existe una complementariedad con la técnica de PCR, ya que vinculada a ella, se puede amplificar la región del gen 16S rRNA por medio del diseño primers universales (Olsen 2009).

## CONCLUSIONES

El mayor avance en diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas, así como del papel que juegan las bacterias comensales en condiciones de salud en un hábitat tan diverso como lo es la cavidad oral, depende en gran medida de la capacidad de la tecnología, la capacidad para detectar e identificar más de un patógeno de forma simultánea en un mismo espécimen y de la implementación de técnicas moleculares en los laboratorios clínicos de microbiología, con la finalidad de llegar a la identificación de perfiles microbianos que abarquen tanto bacterias cultivables como bacterias no cultivables, que nos puedan ayudar al mejor entendimiento del proceso salud – enfermedad.

Es realmente interesante el hecho de que tanto las especies cultivables como no cultivables, se encuentran implicadas en el equilibrio del estado de salud de un individuo, así como en diversos padecimientos de infecciones intraorales. Por otro lado, a pesar de que muchas de estas especies son compatibles con salud en su hábitat en cavidad oral, pueden estar relacionadas con infecciones extraorales severas o inclusive sistémicas. Finalmente, con la revisión de artículos científicos sobre estudios realizados con enfoque en la identificación de especies y géneros bacterianos de la cavidad oral, puede llegar a comprenderse la complejidad que abarcan aproximadamente las 700 especies descritas de la cavidad oral.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aas JA, Barbutto SM, Alpagot T, Olsen I, Dewhirst FE, Paster BJ. Subgingival plaque microbiota in HIV positive patients. *J Clin Microbiol* 2007; 34: 189-95.
2. Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE, Leys EJ, Paster BJ Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1407-1417.
3. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5721–5732.
4. Aas JA, Reime L, Pedersen K, Eribe ER, Abesha-Belay E, Støre G, Olsen I. Osteoradionecrosis contains a wide variety of cultivable and non-cultivable bacteria. *J Oral Microbiol* 2010; 13: 2.
5. Abusleme L, Dupuy A, Dutzan N, SilvaN, Burleson J, Linda D, Strausbaugh L, Gamonal J and Diaz P. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *The ISME Journal* 2013; 7: 1016–1025
6. Al Chekakie MO, Heroux A, M Montpetit, Nemeh H. *Gemella morbillorum* prothetic valve endocarditis. *Congest Heart Fail* 2009; 15: 291-292.
7. Alasil SM, Omar R, Ismail S, Yusof MY, Dhabaan GN, Abdulla MA. Evidence of Bacterial Biofilms among Infected and Hypertrophied Tonsils in Correlation with the Microbiology, Histopathology, and Clinical Symptoms of Tonsillar Diseases. *Int J Otolaryngol* 2013.
8. Amann R, Ludwig W. Ribosomal RNA-targeted nucleic acid probes for studies in microbial ecology. *FEMS Microbiol Rev* 2000; 24: 555–565.
9. Amann RI, Ludwig W, Schleifer K. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev* 1995; 59: 143–169.

10. Anderson EL, Cole JN, Olson J, Ryba B, Ghosh P, Nizet V. The AgI/II Family Adhesin AspA Is Required for Respiratory Infection by *Streptococcus pyogenes*. *J Biol Chem* 2014, 2013.
11. Bae Y., Ito T., Iida T., Uchida K., Sekine M., Nakajima Y., Kumagai J., Yokoyama T., Kawachi H., Akashi T., Eishi Y. Intracellular *Propionibacterium acnes* Infection in Glandular Epithelium and Stromal Macrophages of the Prostate with or without Cancer. *PLoS One* 2014; 9.
12. Bahrani-Mougeot FK, Paster BJ, Coleman S, Barbuto S, Brennan MT, Noll J, Kennedy T, Fox PC, Lockhart PB. Molecular analysis of oral and respiratory bacterial species associated with ventilator-associated pneumonia. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1588-1593.
13. Baker GC, Smith JJ, Cowan DA. Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *J Microbiol Methods* 2003; 55:541–555.
14. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. Molecular analysis of bacterial species associated with early childhood caries. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1001–1009.
15. Bedran TB, Azelmat J, Spolidorio DP, Grenier D. Fibrinogen-induced *Streptococcus mutans* biofilm formation and adherence to endothelial cells. *Biomed Res Int* 2013.
16. Belstrom D, Fiehn NE, Nielsen CH, Kirkby N, Twetman S, Klepac-Ceraj V, Paster BJ, Holmstrup P. Differences in bacterial saliva profile between periodontitis patients and a control cohort. *J Clin Periodontol* 2014; 41: 104-112.
17. Ben Dekhil SM, Peel MM, Lennox VA, Stackebrandt E, Sly LI. Isolation of *Lautropia mirabilis* from sputa of a cystic fibrosis patient. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1024-1026.

18. Bernard CS, Giraud C, Spagnolo J, Bentzmann Sd. Biofilms: the secret story of microbial communities. In: Locht C, Simonet M, editors. *Bacterial Pathogenesis Molecular and Cellular Mechanisms*. Norfolk: Caister Academic Press. 2012: 129–168.
19. Bisiaux-Salauze B, Perez C, Sebald M, Petit JC. Bacteremias caused by *Selenomonas artemidis* and *Selenomonas infelix*. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 140-142.
20. Booth V, Downes J, Van den Berg J, Wade WG. Gram-positive anaerobic bacilli in human periodontal disease. *J Periodontol Res* 2004; 39: 213-220.
21. Boutaga K, Savelkoul PH, Winkel EG, van Winkelhoff AJ. Comparison of subgingival bacterial sampling with oral lavage for detection and quantification of periodontal pathogens by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol* 2007; 78: 79–86.
22. Brito LC, Sobrinho AP, Teles RP, Socransky SS, Haffajee AD, Vieira LQ, Teles FR. Microbiologic profile of endodontic infections from HIV- and HIV+ patients using multiple-displacement amplification and checkerboard DNA-DNA hybridization. *Oral Dis*. 2012; 18: 558-567.
23. Caporaso JG, Lauber LC, Walters AW, Berg-Lyons D, Lozupone AC, Turnbaugh JP, Fierer N, and Knight R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *PNAS* 2011; 118: 4516-4522.
24. Carranza F. Microbiology. In: Carranza F, Shklar G, editors. *History of Periodontology*. Carol Stream: Quintessence Publishing Co, Inc 2003: 80–91.
25. Casarin RC, Barbagallo A, Meulman T, Santos VR, Sallum EA, Nociti FH, Duarte PM, Casati MZ, Gonçalves RB. Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodontol Res* 2013, 2012; 48: 30-36.

26. Casarin RC, Saito D, Santos VR, Pimentel SP, Duarte PM, Casati MZ, Gonçalves RB. Detection of *Mogibacterium timidum* in subgingival biofilm of aggressive and non-diabetic and diabetic chronic periodontitis patients. *Braz J Microbiol* 2012; 43: 931-937.
27. Chakravorty S, Helb D, Burday M, Connell N, and Alland D. A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *J Microbiol Methods* 2007; 69: 330–339
28. Chen T, Yu WH, Izard J, Baranova OV, Lakshmanan A, Dewhirst FE. The human oral microbiome database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database* (Oxford) 2010.
29. Chotai S, Moon HJ, Kim JH, Kim JH, Chung HS, Park YK, Kwon TH. Brain abscess caused by *Gemella morbillorum* case report and review of the literature. *Turk Neurosurg* 2012; 22:374-377.
30. Chour KL, Nadkarni MA, Byun R, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 843-9.
31. Chugal N, Wang JK, Wang R, He X, Kang M, Li J, Zhou X, Shi W, Lux R. Molecular characterization of the microbial flora residing at the apical portion of infected root canals of human teeth. *J Endod* 2011; 37: 1359-1364.
32. Chung HY, Sung H, Lee MY, Yoon NS, Lee SG, Suh DJ, Kim MN. A case of bacteremia by *Atopobium rimae* in a patient with liver cirrhosis. *Korean J Lab Med* 2007 27:351-354.
33. Ciantar M, Spratt DA, Newman HN, Wilson M. *Capnocytophaga granulosa* and *Capnocytophaga haemolytica*: novel species in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 701-705.

34. Civen R, Väisänen ML, Finegold SM. Peritonsillar abscess, retropharyngeal abscess, mediastinitis, and nonclostridial anaerobic myonecrosis: a case report. *Clin Infect Dis* 1993; 16: 299-303.
35. Colombo AP, Boches SK, Cotton SL, Goodson JM, Kent R, Haffajee AD, Socransky SS, Hasturk H, Van Dyke TE, Dewhirst F, Paster BJ. Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis, and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol* 2009; 80: 1421-1432.
36. Colombo AP, Sakellari D, Haffajee AD, Tanner A, Cugini MA, Socransky SS. Serum antibodies reacting with subgingival species in refractory periodontitis subjects. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 596-604.
37. Colombo AP, Teles RP, Torres MC, Souto R, Rosalem WJ, Mendes MC, Uzeda M. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *J Periodontol* 2002; 73: 360–369.
38. Costerton J, Cook G, Lamont R. The community architecture of biofilms: dynamic structures and mechanisms. In: Newman HN & Wilson M, ed. *Dental Plaque Revisited: Oral Biofilms in Health and Disease*. Eastman Dental Institute, University College London 1999; 5-14.
39. Cotton SL, Klepac-Ceraj V, Murphy CM, Kokaras AS, Paster BJ. Species Level Determination of High-throughput Sequencing Data using HOMIM Probes. *J Dent Res (AADR)* 2013; 92: 3828.
40. da Silva ES, Feres M, Figueiredo LC, Shibli JA, Ramiro FS, Faveri M. Microbiological diversity of peri-implantitis biofilm by Sanger sequencing. *Clin Oral Implants Res* 2013
41. Daly CG, Highfield JE. Effect of localized experimental gingivitis on early supragingival plaque accumulation. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 160–164.
42. de Lillo A, Booth V, Kyriacou L, Weightman AJ, Wade WG. Culture-independent identification of periodontitis-associated *Porphyromonas* and

- Tannerella* populations by targeted molecular analysis. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 5523-5527.
43. Dewhirst FE, Chen CK, Paster BJ, Zambon JJ. Phylogeny of species in the family Neisseriaceae isolated from human dental plaque and description of *Kingella oralis* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1993; 43: 490-499.
  44. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH, Lakshmanan A, Wade GW. The Human Oral Microbiome. *J. of Bacteriology* 2010; 192: 5002-5017
  45. Dewhirst FE, Tamer MA, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Boches SK, Galvin JL, Paster BJ. The diversity of periodontal spirochetes by 16S rRNA analysis. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15: 196-202.
  46. Doyuk E, Ormerod OJ, Bowler IC. Native valve endocarditis due to *Streptococcus vestibularis* and *Streptococcus oralis*. *J Infect* 2002; 45: 39-41.
  47. Duvignaud A, Ribeiro E2, Moynet D3, Longy-Boursier M2, Malvy D4. Cervical spondylitis and spinal abscess due to *Actinomyces meyeri*. *Braz J Infect Dis* 2014; 18: 106-109.
  48. Ensen A, Fago-Olsen H, Sorensen CH, Kilian M. Molecular mapping to species level of the tonsillar crypt microbiota associated with health and recurrent tonsillitis. *PLoS One* 2013; 8
  49. Esmaili N, H Mortazavi, Noormohammadpour P, Boreiri M, Soori T, Vasheghani Farahani I, Mohit M. Pemphigus vulgaris and infections: a retrospective study on 155 patients. *Autoimmune Dis* 2013.
  50. Etoh Y, Dewhirst FE, Paster BJ, Yamamoto A, Goto N. *Campylobacter showae* sp. nov., isolated from the human oral cavity. *Int J Syst Bacteriol* 1993; 43: 631-639.
  51. Faveri M, MayerMPA, Feres M, de Figueiredo LC, Dewhirst FE, Paster BJ. Microbiological diversity of generalized aggressive periodontitis by 16S rRNA clonal analysis. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23: 112-118.

52. Marqués A, Maestre Vera JR, Mateo Maestre M, González Romo F, Castrillo Amores MA. Septic arthritis of the knee due to *Prevotellaloescheii* following tooth extraction. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008; 13: 505-507.
53. Fernández OA, García de la Fuente C, Saéz NJA, Valdezate RS. Procedimientos en microbiología médica 2010.
54. Ferreira DC, Rocas IN, Paiva SS, Carmo FL, Cavalcante FS, Rosado AS, Santos KR, Siqueira JF Jr. Viral-bacterial associations in acute apical abscesses. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011; 112: 264-271.
55. Figuero E, Lindahl C, Marín MJ, Renvert S, Herrera D, Ohlsson O, Wetterling T, Sanz M. Quantification of Periodontal Pathogens in Vascular, Blood and Subgingival Samples from Patients with Peripheral Arterial Disease or Abdominal Aortic Aneurysms. *J Periodontol* 2014.
56. Fine DH, Markowitz K, Fairlie K, Tischio-Bereski D, Ferrendiz J, Furgang D, Paster BJ, Dewhirst FE. A consortium of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus parasanguinis*, and *Filifactor alocis* is present in sites prior to bone loss in a longitudinal study of localized aggressive periodontitis. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 2850-2861.
57. Forbes AB, Sahm FD, Weissfeld SA. Bailey & Scott's Diagnóstico microbiológico. 12ª ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana 2009. Pp. 86-89.
58. Frandsen EV, Poulsen K, Könönen E, Kilian M. Diversity of *Capnocytophaga* species in children and description of *Capnocytophaga leadbetteri* sp. nov. and *Capnocytophaga* genospecies AHN8471. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008; 58: 324-336.
59. Fujiyoshi T, Yoshida M, Udaka T, Tanabe T, Makishima K. Clinical relevance of the *Streptococcus milleri* group in head and neck infections. *Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho* 2002; 105: 14-21.

60. Galen BT, Banach DB, Gitman MR, Trow TK. Meningoencephalitis due to *Gemella haemolysans*. *J Med Microbiol* 2014; 63: 138-139.
61. Gibbons RJ, Nygaard M. Interbacterial aggregation of plaque bacteria. *Arch Oral Biol* 1970; 15: 1397–1400.
62. Gmür R, Guggenheim B, Giertsen E, Thurnheer T. Automated immunofluorescence for enumeration of selected taxa in supragingival dental plaque. *Eur J Oral Sci* 2000; 108: 393-402.
63. Goncalves LF, Fermiano D, Feres M, Figueiredo LC, Teles FR, Mayer MP, Faveri M. Levels of *Selenomonas* species in generalized aggressive periodontitis. *J Periodontal Res* 2012; 47: 711-718.
64. Griffen AL, Beall CJ, Campbell JH, Firestone ND, Kumar PS, Yang ZK, Podar M, Leys EJ. Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. *ISME J* 2012; 6: 1176–1185.
65. Griffin AT, Timbrook T, Harting J, Christensen D. *Streptococcus anginosus* group and osteomyelitis: a single centre clinical experience. *Postgrad Med J* 2013; 89: 262-265.
66. Gross EL, Leys EJ, Gasparovich SR, Firestone ND, Schwartzbaum JA, Janies DA, Asnani K, Griffen AL. Bacterial 16S Sequence Analysis of Severe Caries in Young Permanent Teeth. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 4121-4128.
67. Gundre P, Pascal W, Abrol S, Kupfer Y, Tessler S. Prosthetic valve endocarditis caused by *Gemella sanguinis* a consequence of persistent dental infection. *Am J Med Sci* 2011; 341: 512-513.
68. Haffajee AD, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Lopez NJ, Socransky SS. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 996–1002.
69. Haffajee AD, Socransky SS, Patel MR, Song X. Microbial complexes in supragingival plaque. *Oral Microbiol Immunol*. 2008; 23: 196–205.

70. Haffajee AD, Teles RP, Patel MR, Song X, Veiga N, Socransky SS. Factors affecting human supragingival biofilm composition. I. Plaque mass. *J Periodontal Res.* 2009; 44: 511–519.
71. Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. Association of *Eubacterium nodatum* and *Treponema denticola* with human periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21: 269–282.
72. Holt GJ. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9a ed. Philadelphia 1994.
73. Hsiao WW, Li KL, Liu Z, C Jones, Fraser-Liggett CM, Fouad AF. Microbial transformation from normal oral microbiota to acute endodontic infections. *BMC Genomics* 2012; 13: 345.
74. Hugenholtz P, Pace NR. Identifying microbial diversity in the natural environment: a molecular phylogenetic approach. *Trends Biotechnol* 1996; 14: 190–197.
75. Huyghe A, François P, Mombelli A, Tangomo M, Girard M, Baratti-Mayer D, Bolivar I, Pittet D, Schrenzel J;. Microarray analysis of microbiota of gingival lesions in noma patients. Geneva Study Group on Noma *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7: 2453.
76. Jaqua NT, Smith AJ, Shin TT, Jahanmir J. *Actinomyces naeslundii* and *Eikenella corrodens* as rare causes of liver abscesses. *BMJ Case Rep.* 2013.
77. Kalarostaghi AH, Pell MF, Turner J, Coffey G. Polymicrobial brain stem abscess due to *Streptococcus anginosus* and *Actinomyces* species. *J Clin Neurosci* 1999; 6: 415-418.
78. Kamma JJ, Nakou M, Mitsis FJ. The clinical and microbiological effects of systemic ornidazole in sites with and without subgingival debridement in early-onset periodontitis patients. *J Periodontol* 2000; 71: 1862-1873.

79. Kanasi E, Dewhirst FE, Chalmers NI, Kent R Jr, Moore A, Hughes CV, Pradhan N, Loo CY, Tanner AC. Clonal analysis of the microbiota of severe early childhood tooth decay. *Caries Res* 2010; 44: 485-497.
80. Kawamura Y, Hou XG, Todome Y, Sultana F, Hirose K, Shu SE, Ezaki T, Ohkuni H. *Streptococcus peroris* sp. nov. and *Streptococcus infantis* sp. nov., new members of the *Streptococcus mitis* group, isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Bacteriol* 1998; 48: 921-927.
81. Kazor CE, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ, Dewhirst FE, Paster BJ. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J Clin Microbiol*. 2003; 41: 558-563.
82. Kim K, Heimisdottir K, Gebauer U, Persson GR. Clinical and microbiological findings at sites treated with orthodontic fixed appliances in adolescents. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010; 137: 223-228.
83. Kim KS, Rowlinson MC, Bennion R, Liu C, Talan D, Summanen P, Finegold SM. Characterization of *Slackia exigua* isolated from human wound infections, including abscesses of intestinal origin. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1070-1075.
84. Kolenbrander PE, Andersen RN, Moore LV. Coaggregation of *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas flueggei*, *Selenomonas infelix*, *Selenomonas noxia*, and *Selenomonas sputigena* with strains from 11 genera of oral bacteria. *Infect Immun* 1989; 57: 3194-203.
85. Kolenbrander PE., Robert J. Palmer JR, Alexander H. Rickard, Nicholas S. Jakubovics, Natalia I. Chalmers & Patricia I. Diaz Bacterial interactions and successions during plaque development *J Periodontology*. 2000, 2006; 42: 47-79.
86. Koyanagi T, Sakamoto M, Takeuchi Y, Ohkuma M, Izumi Y. Analysis of microbiota associated with peri-implantitis using 16S rRNA gene clone library. *J Oral Microbiol* 2010; 24: 2.

87. Kumar PS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML, Leys EJ. New bacterial species associated with chronic periodontitis. *J Dent Res* 2003; 82: 338-344.
88. Lederberg, J., and A. T. Mccray. Ome sweet 'omics-a genealogical treasury of words. *Scientist* 2001; 15: 8–10.
89. Lee AB, Harker-Murray P, Ferrieri P, Schleiss MR, Tolar J. Bacterial meningitis from *Rothia mucilaginosa* in patients with malignancy or undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50: 673-676.
90. Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001: 45: 999–1007.
91. Leys EJ, Lyons SR, Moeschberger ML, Rumpf RW, Griffen AL. Association of *Bacteroides forsythus* and a novel *Bacteroides* phylotype with periodontitis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 821–825.
92. Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, Socransky SS, Oppenheim FG. Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J Appl Microbiol* 2004; 97: 1311–1318.
93. Lima KC, Coelho LT, Pinheiro IV, Rocas IN, Siqueira JF Jr. Microbiota of dentinal caries as assessed by reverse-capture checkerboard analysis. *Caries Res* 2011; 45: 21-30.
94. Lopez NJ, Socransky SS, Da Silva I, Japlit MR, Haffajee AD. Subgingival microbiota of chilean patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2004; 75: 717–725.
95. Luca AC, Begezsan II, Iordache C. Particularities in diagnosis and treatment for infectious endocarditis in children. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2012 116:1028-1032.

96. Madigan MT, Martinko JM & Parker J. *Biología de los microorganismos*. 12<sup>a</sup> ed. Madrid: Editorial Prentice-Hall 2009. Pp. 29-38, 74-77, 86-91, 121-123, 352-359.
97. Maeda Y, Elborn JS, Parkins MD, Reihill J, Goldsmith CE, Coulter WA, Mason C, Millar BC, Dooley JS, Lowery CJ, Ennis M, Rendall JC, Moore JE. Population structure and characterization of viridans group *streptococci* (VGS) including *Streptococcus pneumoniae* isolated from adult patients with cystic fibrosis (CF). *J Cyst Fibros* 2011; 10: 133-139.
98. Mager DL, Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS: Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 644–654.
99. Maggs AF, Logan JM, Carter PE, Pennington TH. The detection of penicillin insensitivity in *Neisseria meningitidis* by polymerase chain reaction. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42: 303-307.
100. Mahendra J, Mahendra L, Felix J, Romanos G. Prevalence of periodontopathogenic bacteria in subgingival biofilm and atherosclerotic plaques of patients undergoing coronary revascularization surgery. *J Indian Soc Periodontol* 2013; 17: 719-724.
101. Małecki R, Rosiński K, Adamiec R. Etiological factors of infections in diabetic foot syndrome - attempt to define optimal empirical therapy. *Adv Clin Exp Med* 2014; 23: 39-48.
102. Mantzourani M, Fenlon M, Beighton D. Association between Bifidobacteriaceae and the clinical severity of root caries lesions. *Oral Microbiol Immunol* 2009; 24: 32-37.
103. Maresz KJ, Hellvard A, Sroka A, Adamowicz K, Bielecka E, Koziel J, Gawron K, Mizgalska D, Marcinska KA, Benedyk M, Pyrc K, Quirke AM, Jonsson R, Alzabin S, Venables PJ, Nguyen KA, Mydel P, Potempa J. *Porphyromonas gingivalis* facilitates the development and progression of destructive

- arthritis through its unique bacterial peptidylarginine deiminase (PAD). *PLoS Pathog* 2013 9.
104. Mattarelli P, Brandi G, Calabrese C, Fornari F, Prati GM, Biavati B, Sgorbati B. Occurrence of Bifidobacteriaceae in human hypochlorhydria stomach. *Microb Ecol Health Dis* 2014; 9; 25.
  105. Matto J, Asikainen S, Väisänen ML, Rautio M, Saarela M, Summanen P, Finegold S, Jousimies-Somer H. Role of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Prevotella nigrescens* in extraoral and some odontogenic infections. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 194-198.
  106. Mayanagi G, Sato T, Shimauchi H, Takahashi N. Detection frequency of periodontitis-associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of periodontitis and healthy subjects. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19: 379–385.
  107. Mendes SH, Suzuki H, Hickey RJ, Forney LJ. Comparative Functional Genomics of *Lactobacillus* spp. Reveals Possible Mechanisms for Specialization of Vaginal Lactobacilli to Their Environment. *J Bacteriol* 2014; 196: 1458-1470.
  108. Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol* 2000 1994; 5: 66–77.
  109. Moorer WR, Ten Cate JM, Buijs JF. Calcification of a cariogenic *Streptococcus* and of *Corynebacterium* (Bacterionema) matruchotii. *J Dent Res* 1993; 72: 1021-1026.
  110. Mori M, Tsunemine H, Imada K, Ito K, Kodaka T, Takahashi T. Life-threatening hemorrhagic pneumonia caused by *Stenotrophomonas maltophilia* in the treatment of hematologic diseases. *Ann Hematol* 2014.
  111. Morris SK, Nag S, Suh KN, A Evans G. Recurrent chronic ambulatory peritoneal dialysis-associated infection due to *Rothia dentocariosa*. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2004; 15: 171-173.

112. Munson MA, Banerjee A, Watson TF, Wade WG. Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3023–3029.
113. Murray RP, Rosenthal SK, Kobayashi SG, Pfaller AM. Microbiología médica. 4ª ed. Madrid España: Editorial El servier 2003. Pp. 7-9.
114. Noguchi S, Yatera K, Kawanami T, Yamasaki K, Fukuda K, Naito K, Akata K, Nagata S, Ishimoto H, Taniguchi H, Mukae H. Pneumonia and empyema caused by *Streptococcus intermedius* that shows the diagnostic importance of evaluating the microbiota in the lower respiratory tract. *Intern Med* 2014; 53: 47-50.
115. Ohara-Nemoto Y, Kishi K, Satho M, Tajika S, Sasaki M, Namioka A, Kimura S. Infective endocarditis caused by *Granulicatella elegans* originating in the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1405-1407.
116. Okada M, Kawamura M, Oda Y, Yasuda R, Kojima T, Kurihara H. Caries prevalence associated with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in Japanese schoolchildren. *Int J Paediatr Dent* 2012; 22: 342-348.
117. Okamoto T, Hayashi Y, Mizuno H, Yanai H, Nishikawa J, Nakazawa T, Iizasa H, Jinushi M, Sakaida I, Yoshiyama H. Colonization of an acid resistant Kingelladenitrificans in the stomach may contribute to gastric dysbiosis by *Helicobacter pylori*. *J Infect Chemother* 2013; 11.
118. Olsen I, Preza D, Aas JA & Paster BJ. Cultivated and not-yet-cultivated bacteria in oral biofilms. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2009; 21: 65-71
119. Olsen I, Solberg CO, Finegold SM. A primer on anaerobic bacteria and anaerobic infections for the uninitiated. *Infection*. 1999; 27:/159-165.
120. Palmer RJ, Jr., Gordon SM, Cisar JO, Kolenbrander PE. Coaggregation-mediated interactions of *Streptococci* and *Actinomyces* detected in initial human dental plaque. *J Bacteriol* 2003; 185: 3400–3409.

121. Papapanou PN, Teanpaisan R, Obiechina NS, Pithpornchaiyakul W, Pongpaisal S, Pisuithanakan S, Baelum V, Fejerskov O, Dahle'n G. Periodontal microbiota and clinical periodontal status in a rural sample in southern Thailand. *Eur J Oral Sci* 2002; 110: 345–352.
122. Parameswarappa J, Basavaraj VP, Basavaraj CM. Isolation, identification, and antibiogram of enterococci isolated from patients with urinary tract infection. *Ann Afr Med* 2013; 12: 176-181.
123. Paster BJ., Boches SK, Galvin JL., Ericson RE., Lau CN., Levanos VA., Sahasrabudhe A., and Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J. Bacteriol* 2002; 183:3770–3783.
124. Paster BJ, Bartoszyk IM, Dewhirst FE. Identification of oral streptococci using PCR-based, reverse-capture, checkerboard hybridization. *Methods Cell Sci* 1998; 20: 223–231.
125. Paster BJ, Dewhirst FE. Molecular microbial diagnosis. *Periodontol.* 2000 2009; 51: 38–44.
126. Paster BJ, Falkler Jr WA Jr, Enwonwu CO, Idigbe EO, Savage KO, Levanos VA, Tamer MA, Ericson RL, Lau CN, Dewhirst FE. Prevalent bacterial species and novel phylotypes in advanced noma lesions. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2187-2191.
127. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol* 2000 2006; 42: 80–87.
128. Paster BJ, Russell MK, Alpagot T, Lee AM, Boches SK, Galvin JL, Dewhirst FE. Bacterial diversity in necrotizing ulcerative periodontitis in HIV-positive subjects. *Ann Periodontol* 2002; 7: 8-16.
129. Paster BJ and Floyd E. Dewhirst. Molecular Microbial Diagnosis. *Periodontol* 2000, 2009; 51: 38–44.

130. Pérez SVG. Tesis, Compendio ilustrado de especies bacterianas de la cavidad oral humano. México 2011.
131. Preza D, Olsen I, Aas JA, Willumsen T, Grinde B, Paster BJ. Bacterial profiles of root caries in elderly patients. *J Clin Microbiol* 2008; 46:2015–2021.
132. Pumarola A, Rodríguez TA, García RJA, Piedrola AG. Microbiología y parasitología médica. 2ª ed. Masson 1987. Pp. 56-59.
133. Pushalkar S, Ji X, Li Y, Estilo C, Yegnanarayana R, Singh B, Li X, Saxena D. Comparison of oral microbiota in tumor and non-tumor tissues of patients with oral squamous cell carcinoma. *BMC Microbiol* 2012; 12: 144.
134. Ramos JN, Dos Santos LS, Vidal LM, Pereira PM, Salgado AA, Fortes CQ, Vieira VV, Mattos-Guaraldi AL, Júnior RH, Damasco PV A case report and literature overview: *Abiotrophia defectiva* aortic valve endocarditis in developing countries. *Infection* 2014; 8.
135. Rams TE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. Antibiotic resistance in human peri-implantitis microbiota. *Clin Oral Implants Res* 2014; 25: 82-90.
136. Reardon-Robinson ME1, Wu C, Mishra A, Chang C, Bier N, Das A, Ton-That H. Pilus hijacking by a bacterial coaggregation factor critical for oral biofilm development. *Proc Natl Acad Sci US A* 2014; 111: 3835-3840.
137. Riggio MP, Lennon A, Rolph HJ, Hodge PJ, Donaldson A, Maxwell AJ, Bagg J. Molecular identification of bacteria on the tongue dorsum of subjects with and without halitosis. *Oral Dis* 2008; 14: 251-258.
138. Riviere GR, Riviere KH, (2002) Smith KS Molecular and immunological evidence of oral *Treponema* in the human brain and their association with Alzheimer's disease. *Oral Microbiol Immunol* 2002; 17: 113-118.
139. Roberts JL, Maillard JY, Waddington RJ, Denyer SP, Lynch CD, Sloan AJ. Development of an ex vivo coculture system to model pulpal infection by *Streptococcus anginosus* group bacteria. *J Endod* 2013; 39: 49-56.

140. Rocas IN, Alves FR, Santos AL, Rosado AS, Siqueira JF Jr. Apical root canal microbiota as determined by reverse-capture checkerboard analysis of cryogenically ground root samples from teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2010; 36: 1617-1621.
141. Rocas IN, Siqueira JF Jr. Occurrence of two newly named oral treponemes- *Treponemaparvum* and *Treponema putidum* - in primary endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20: 372-375.
142. Sakamoto, M., Rocas, I. N., Siqueira, J. F., Jr & Benno, Y. Molecular analysis of bacteria in asymptomatic and symptomatic endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21, 112–122.
143. Salari MH, Kadkhoda Z. Rate of cultivable subgingival periodontopathogenic bacteria in chronic periodontitis. *J Oral Sci* 2004; 46: 157–161.
144. Saramanayake L. Essential Microbiology for Dentistry. 3a ed. Churchill Livingston. Editorial El Servier 2006. Pp. 53.
145. Sarkonen N, Könönen E, Summanen P, Kanervo A, Takala A and Jousimies-Somer A Oral Colonization with Actinomyces Species in Infants by Two Years of Age. *J Dent Res* 2000; 79: 864-867.
146. Sato T, Nakazawa F. Coaggregation between Prevotella oris and Porphyromonas gingivalis. *Microbiol Immunol Infect* 2012.
147. Scalas D, Roana J, Boffano P, Mandras N, Gallesio C, Amasio M, Banche G, Allizond V, Cuffini AM. Bacteriological findings in radicular cyst and ketocystic odontogenic tumor fluids from asymptomatic patients. *Arch Oral Biol* 2013; 58: 1578-1583.
148. Schmidt JM, Richardson R. J. Serology of *Bacterionema matruchotii*. *Bacteriol* 1962; 83: 584-589.
149. Schwartz DN1, Schable B, Tenover FC, Miller RA. *Leptotrichia buccalis* bacteremia in patients treated in a single bone marrow transplant unit. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 762-767.

150. Shaddox LM1, Huang H, Lin T, Hou W, Harrison PL, Aukhil I, Walker CB, Klepac-Ceraj V, Paster BJ. Microbiological characterization in children with aggressive periodontitis. *J Dent Res* 2012; 91: 927-933.
151. Shailaja TS, Sathivathy KA, Unni G. Infective Endocarditis Caused by *Granulicatella adiacens*. *Indian Heart J* 2013; 65: 447-449.
152. Shang JJ, Yang QB, Zhao HY, Cai S, Zhou Y, Sun Z. Preliminary molecular analysis of bacterial composition in periapical lesions with primary endodontic infections of deciduous teeth. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126: 3112-3117.
153. Silva BCM, Neves AB, Resende FA, Colombo AP. Suppuration-associated bacteria in patients with chronic and aggressive periodontitis *J Periodontol* 2013; 84: 9-16.
154. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Paiva SS, Magalhaes KM, Guimaraes PT. Cultivable bacteria in infected root canals as identified by 16S rRNA gene sequencing. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22: 266-271.
155. Siqueira JF Jr, Rocas IN. *Catonella morbi* and *Granulicatella adiacens*: new species in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102: 259-264.
156. Siqueira JF Jr, Rocas IN. PCR-based identification of *Treponema maltophilum*, *T amylovorum*, *T medium*, and *T lecithinolyticum* in primary root canal infections. *Arch Oral Biol* 2003; 48: 495-502.
157. Slots J, Rams TE, Taubman MA. Methods for the study of oral microorganisms. In: Slots J, editors. Contemporary oral microbiology. St Louis: Mosby Year Book; 1992:275-282.
158. Socransky SS, Haffajee AD. Dental Biofilms: Difficult Therapeutic Targets. *Periodontol* 2000, 2002; 28: 12–55.
159. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 134–144.

160. Socransky SS, Haffajee AD, Smith GL, Dzink JL. Difficulties encountered in the search for the etiologic agents of destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1987; 14: 588–593.
161. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000 2005; 38: 135–187.
162. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. “Checkerboard” DNA-DNA hybridization. *Biotechniques* 1994; 17:/788-792.
163. Takiguchi Y, Terano T, Hirai A. Lung abscess caused by *Actinomyces odontolyticus*. *Intern Med* 2003; 42: 723-725.
164. Tamura N, Ochi M, Miyakawa H, Nakazawa F. Analysis of bacterial flora associated with peri-implantitis using obligate anaerobic culture technique and 16S rDNA gene sequence. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013; 28: 1521-1529.
165. Tanner AC, Kent RL Jr, Holgerson PL, Hughes CV, Loo CY, Kanasi E, Chalmers NI, Johansson I. Microbiota of severe early childhood caries before and after therapy. *J Dent Res* 2011; 90: 1298-1305.
166. Tanner AC, Mathney JM, Kent RL, Chalmers NI, Hughes CV, Loo CY, Pradhan N, Kanasi E, Hwang J, Dahlan MA, Papadopoulou E, Dewhirst FE. Cultivable anaerobic microbiota of severe early childhood caries. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 1464-1474.
167. Tazumi A, Maeda Y, Goldsmith CE, Coulter WA, Mason C, Millar BC, McCalmont M, Rendall J, Elborn JS, Matsuda M, Moore JE. Molecular characterization of macrolide resistance determinants [erm(B) and mef(A)] in *Streptococcus pneumoniae* and viridans group streptococci (VGS) isolated from adult patients with cystic fibrosis (CF). *J Antimicrob Chemother* 2009; 64: 501-506.

168. Tek M, Metin M, Sener I, Bereket C, Tokac M, Kazancioglu HO, Ezirganli S. The predominant bacteria isolated from radicular cysts. *Head Face Med* 2013; 9: 25.
169. Teles FR, Teles RP, Sachdeo A, Uzel NG, Song XQ, Torresyap G, Singh M, Papas A, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of microbial changes in early redeveloping biofilms on natural teeth and dentures. *J Periodontol* 2012; 83: 1139-1148.
170. Teles FR, Teles F, Frias LJ, Paster B & Haffajee A. Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology. *Periodontology* 2000, 2013; 62: 95–162.
171. Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol* 2000 2006: 42: 180– 218.
172. Teles F, Patel M, Soares GMS, Dias R, Teles RP, Paster BJ, and Socransky SS. Optimizing the Cultivation of Novel Periodontal Taxa. *International Association for Dental Research (IADR)* 2014.
173. Tran SD, Rudney JD. Improved multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, and *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3504–3508.
174. Turrone F, Foroni E, Pizzetti P, Giubellini V, Ribbera A, Merusi P, Cagnasso P, Bizzarri B, de'Angelis GL, Shanahan F, van Sinderen D, Ventura M. Exploring the diversity of the bifidobacterial population in the human intestinal tract. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75: 1534-1545.
175. Tyrrell KL, Citron DM, Warren YA, Nachnani S, Goldstein EJ. Anaerobic bacteria cultured from the tongue dorsum of subjects with oral malodor. *Anaerobe* 2003; 9: 243-246.
176. Van de Peer Y, Chapelle S, De Wachter R. A quantitative map of nucleotide substitution rates in bacterial rRNA. *Nucleic Acids Res* 1996; 24: 3381–3391.

177. van Winkelhoff AJ, Herrera D, Oteo A, Sanz M. Antimicrobial profiles of periodontal pathogens isolated from periodontitis patients in The Netherlands and Spain. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 893–898.
178. Vartoukian SR, Downes J, Palmer RM, Wade WG. *Fretibacterium fastidiosum* gen. nov., sp. nov., isolated from the human oral cavity. *Int J Syst Evol Microbiol* 2012.
179. Wade WG, Spratt DA, Dymock D, Weightman AJ. Molecular detection of novel anaerobic species in dentoalveolar abscesses. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 235–236.
180. Wang HK<sup>1</sup>, Chen YC, Teng LJ, Hung CC, Chen ML, Du SH, Pan HJ, Hsueh PR, Chang SC. Brain abscess associated with multidrug-resistant *Capnocytophaga ochracea* infection. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 645-647.
181. Warburton PJ, Ciric L, Lerner A, Seville LA, Roberts AP, Mullany P, Allan E. TetAB46, a predicted heterodimeric ABC transporter conferring tetracycline resistance in *Streptococcus australis* isolated from the oral cavity. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68: 17-22.
182. Warner JF, Perkins RL, Cordero L. Metronidazole therapy of anaerobic bacteremia, meningitis, and brain abscess. *Arch Intern Med* 1979; 139: 167-169.
183. Wolff B, Berger T, Frese C, Max R, Blank N, Lorenz HM, Wolff D. Oral status in patients with early rheumatoid arthritis: a prospective, case-control study. *Rheumatology (Oxford)* 2014; 53: 526-531.
184. Wolff D, Frese C, Maier-Kraus T, Krueger T, Wolff B. Bacterial biofilm composition in caries and caries-free subjects. *Caries Res* 2013; 47: 69-77.
185. Wolfgang WJ, Passaretti TV, Jose R, Cole J, Coorevits A, Carpenter AN, Jose S, Van Landschoot A, Izard J, Kohlerschmidt DJ, Vandamme P, Dewhirst FE, Fisher MA, Musser KA. *Neisseria oralis* sp. nov., isolated from healthy

- gingival plaque and clinical samples. *Int J Syst Evol Microbiol* 2013; 63: 1323-1328.
186. Wood SR, Kirkham J, Marsh PD, Shore RC, Nattress B, et al. Architecture Of Intact Natural Human Plaque Biofilms Studied By Confocal Laser Scanning Microscopy. *J Dent Res* 2002; 79: 21–27.
187. Wunderink HF, Lashley EE, van Poelgeest MI, Gaarenstroom KN, Claas EC, Kuijper EJ Pelvic actinomycosis-like disease due to *Propionibacterium propionicum* after hysteroscopic removal of an intrauterine device. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 466-468.
188. Wyss C, Choi BK, Schupbach P, Moter A, Guggenheim B, Gobel UB. *Treponema lecithinolyticum* sp. nov., a small saccharolytic spirochaete with phospholipase A and C activities associated with periodontal diseases. *Int J Syst Bacteriol* 1999; 49: 1329–1339.
189. Wyss C, Moter A, Choi BK, Dewhirst FE, Xue Y, Schupbach P, Gobel UB, Paster BJ, Guggenheim B. *Treponema putidum* sp. nov., a medium-sized proteolytic spirochaete isolated from lesions of human periodontitis and acute necrotizing ulcerative gingivitis. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004; 54: 1117–1122.
190. Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Martin L, Tanner A, Macuch P, Socransky SS. Identification of oral *Actinomyces* species using DNA probes. *Oral Microbiol Immunol* 1999; 14: 257-265.
191. Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 648–657.
192. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 722– 732.

193. Ximenez-Fyvie LA, Almaguer-Flores A, Jacobo-Soto V, Lara-Cordoba M, Moreno-Borjas JY, Alcantara-Maruri E. Subgingival microbiota of periodontally untreated Mexican subjects with generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2006; 33: 869–877.
194. Yip HK, Guo JH, Wong WH. Incipient caries lesions on cementum by mono- and co culture oral bacteria *J Dent* 2007; 35: 377-382.
195. Yoo SY, Kim KJ, Lim SH, Kim KW, Hwang HK, Min BM, Choe SJ, Kook JK. First isolation of *Streptococcus downei* from human dental plaques. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 249: 323-326.
196. Yuksel D, Hazirolan D, Sungur G, Duman S. Actinomyces canaliculitis and its surgical treatment. *Int Ophthalmol* 2012; 32: 183-186.
197. Zhang H, Sun J, Liu X, Hong C, Zhu Y, Liu A, Li S, Guo H, Ren F. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LC01 positively modulates intestinal microflora in healthy young adults. *J Microbiol* 2013; 51: 777-782.

# Tablas

**Tabla 1a.** Generalidades especies del *Phylum Firmicutes*.

Species used in HOMIM thecnique	Strain culture/Collection (Main examples)	Phyla	Class
<i>Abiotrophia defectiva</i> HOT-389_AF94	ATCC 49176, 27639 CCUG T	Firmicutes	Bacilli
<i>Enterococcus saccharolyticus</i> HOT-802_AG41	ATCC 43076 T, CCM4377 T, CCUG 27643 T, DSM 20726 T	Firmicutes	Bacilli
<i>Gemella haemolysans</i> HOT-626 / <i>Gemella sanguinis</i> HOT-757_K63	ATCC 10379 T, CCUG 37985 T (HOT-626); ATCC 700632 T, CCM 4941 T (HOT-757)	Firmicutes	Bacilli
<i>Gemella haemolysans</i> HOT-626_AG51	ATCC 700632 T, CCM 4941 T, CCUG 37820 T (HOT-757)	Firmicutes	Bacilli
<i>Gemella morbillorum</i> HOT-046_AB09	ATCC 27824	Firmicutes	Bacilli
<i>Gemella sanguinis</i> HOT-757_AB17	ATCC 27824	Firmicutes	Bacilli
<i>Granulicatella adiacens</i> HOT-534 / <i>Granulicatella elegans</i> HOT-596_W81	ATCC 700633 (HOT-596)	Firmicutes	Bacilli
<i>Granulicatella adiacens</i> HOT-534_AB30	ATCC 49175	Firmicutes	Bacilli
<i>Lactobacillus acidophilus</i> HOT-529_AC30	ATCC 4355, CIP 103596	Firmicutes	Bacilli
<i>Lactobacillus casei</i> HOT-568 / <i>Lactobacillus paracasei</i> HOT-716 / <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HOT-749_W94	ATCC 393 T, BCC 4308 T (HOT-568); ATCC 27216 T, BCRC 12188 T (HOT-716); ATCC 31283 , NBRC 3831 (HOT-749)	Firmicutes	Bacilli
<i>Lactobacillus fermentum</i> HOT-608_E51	ATCC 14931 T, CCT 3434 T, CCUG 30138 T	Firmicutes	Bacilli
<i>Lactobacillus gasserii</i> HOT-615 / <i>Lactobacillus johnsonii</i> HOT-819_V86	B5688/95, CCUG 34884 (HOT-615); ATCC 33200 T, BCRC 17474 T, CCM 4384 T (HOT-819)	Firmicutes	Bacilli
<i>Staphylococcus aureus</i> HOT-550_AH29	CCUG 37939 A; Bristol A 9596, ptcc1189 (116 query taxon)	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus anginosus</i> HOT-543 / <i>Streptococcus gordonii</i> HOT-622_F49	ATCC 12395, ATCC 33397, CCUG 39159 (HOT-543)	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus anginosus</i> HOT-543 / <i>Streptococcus gordonii</i> HOT-622_X11	ATCC 10558, NCTC7865 (HOT-622)	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus australis</i> HOT-073_AH32	ATCC 700641, CCUG 45919, DSM 15627, KCCT 13913, NCTC 13166	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus constellatus</i> HOT-576 / <i>Streptococcus intermedius</i> HOT-644_AB77	BA1, ATCC 27335, JTH08, SK54, F0395, F0413 (HOT-644)	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus constellatus</i> HOT-576 / <i>Streptococcus intermedius</i> HOT-644_F48	CCUG 28196, CCUG 28197, CCUG 27638, 4055, ATCC 27823, CCM 4043 (HOT-576)	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus cristatus</i> HOT-578_AD88	ATCC 51100, F0329	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus downei</i> HOT-594_AD67	F0415, ATCC 33748, BCRC 14752	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus infantis</i> HOT-638 / <i>Streptococcus</i> sp. HOT-065_Y74	SK970, SK1302, SK1076, ATCC 700779, ATCC BAA-102 (HOT-638) None, not yet cultivated (HOT-065)	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus mitis</i> bv2 HOT-398_AH36		Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus mutans</i> HOT-686_AC57		Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus oralis</i> HOT-707 / <i>Streptococcus</i> sp. HOT-064_F46	SK304, SK610, ATCC 35037, NCTC 11427, ATCC 35037 (HOT-707)	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus parasanguinis</i> I HOT-721 / <i>Streptococcus parasanguinis</i> II HOT-411 / <i>Streptococcus</i> sp. HOT-057_	85A25AP (HOT-057), ATCC 903, ATCC 15912 (HOT-721), F0405 (HOT-411)	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus pyogenes</i> HOT-745_AD94	No. of genomes for ORAL TAXON ID (HOT) 745: 18	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus salivarius</i> HOT-755 / <i>Streptococcus vestibularis</i> HOT-021 / <i>Streptococcus</i> sp. HOT-067_E34	K12, PS4, M18, S7.1, SK126, JIM8780, JIM8777 (HOT-755)	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus salivarius</i> HOT-755 / <i>Streptococcus vestibularis</i> HOT-021_AH39	ATCC 49124, F0396 (HOT-021)	Firmicutes	Bacilli
<i>Streptococcus sobrinus</i> HOT-768_Q60	DSM 20742, TCI-107, W1703	Firmicutes	Bacilli
<i>Enterococcus faecalis</i> HOT-604_N28	ATCC 33200 T, BCRC 17474 T, CCM4384 T, CCRC 17474 T, 30725 CCUG T	Firmicutes	Bacilos
<i>Granulicatella elegans</i> HOT-596_AB28	ATCC 700633 T, B1333 T, CCM 4945 T, 38949 CCUG T	Firmicutes	Bacillos
<i>Anaeroglobus geminatus</i> HOT-121_AA56	CCUG 44773 T, CIP 106856 T	Firmicutes	Clostridia
<i>Catonella morbi</i> HOT-165 / <i>Catonella</i> sp. HOT-164_O56	ATCC 51271 (HOT-540), Not yet cultivated (164)	Firmicutes	Clostridia
<i>Dialister invisus</i> HOT-118_AG33	CCUG 47026, DSM 15470	Firmicutes	Clostridia
<i>Eubacterium</i> [11][G-3] <i>brachy</i> HOT-557_O47	None	Firmicutes	Clostridia
<i>Eubacterium</i> [11][G-5] <i>saphenum</i> HOT-759_AA71	ATCC 49989	Firmicutes	Clostridia
<i>Eubacterium</i> [11][G-6] <i>nodatum</i> HOT-694_Y46	ATCC 33099	Firmicutes	Clostridia
<i>Eubacterium</i> [11][G-7] <i>yurii</i> HOT-377_AG46	ATCC 43715	Firmicutes	Clostridia
<i>Filifactor aloclis</i> HOT-539_AA69	ATCC 35896	Firmicutes	Clostridia
<i>Megasphaera</i> sp. HOT-123_AD11	None, not yet cultivated	Firmicutes	Clostridia
<i>Mogibacterium timidum</i> HOT-042_AB25	ATCC 33093, ATCC 33092, ATCC 33094	Firmicutes	Clostridia
<i>Parvimonas micra</i> HOT-111_AG78	ATCC 33270 T, CCUG 17638 T, DSM 20468 T	Firmicutes	Clostridia
<b>Peptostreptococcaceae</b> [13][G-1] sp. HOT-113_AD07	None, not yet cultivated	Firmicutes	Clostridia
<i>Peptostreptococcus stomatis</i> HOT-112_AG87	DSM 17678, W2278	Firmicutes	Clostridia
<i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> HOT-538_AB69	ATCC 23263, CCUG 52346, CIP 106365, CIP 106365, CIP 10783, CIP 107831, DO-4	Firmicutes	Clostridia
<i>Selenomonas artemidis</i> HOT-124_AH15	1697, ATCC 43528, ATCC 700228	Firmicutes	Clostridia
<i>Selenomonas dianae</i> HOT-139_AH17	ATCC 43531	Firmicutes	Clostridia
<i>Selenomonas flueggei</i> HOT-125_AH18	ATCC 43531	Firmicutes	Clostridia
<i>Selenomonas infelix</i> HOT-639 / <i>Selenomonas</i> spp. HOT-126,479,481_AC13	ATCC 43532 (HOT-639), None, not yet cultivated (HOT-126)	Firmicutes	Clostridia
<i>Selenomonas noxia</i> HOT-130 / <i>Selenomonas</i> sp. HOT-140_AC04	ATCC 43541(HOT-130), 66T28P (HOT-140)	Firmicutes	Clostridia
<i>Selenomonas</i> sp. HOT-133_M09	37T26BP	Firmicutes	Clostridia
<i>Selenomonas</i> sp. HOT-149,481_AB60	67H29BP	Firmicutes	Clostridia
<i>Selenomonas</i> spp. HOT-134,442_Y73	None, not yet cultivated	Firmicutes	Clostridia
<i>Selenomonas</i> spp. HOT-136,149,478_AB61	66H28BA(HOT-136), 67H29BP (HOT-149)	Firmicutes	Clostridia
<i>Selenomonas</i> spp. HOT-138,146,892_Q52	50H31BP (HOT-138), 73H20BP (HOT-146), F0426 (HOT-892)	Firmicutes	Clostridia
<i>Veillonella atypica</i> HOT-524_W04	ATCC 12641, BYR2	Firmicutes	Clostridia
<i>Veillonella dispar</i> HOT-160 / <i>Veillonella parvula</i> HOT-161_Q67	ATCC 17748 T, DSM 20735 T (HOT-160); ATCC 17745 T, CCUG 5122 T (HOT-161)	Firmicutes	Clostridia
<i>Veillonella</i> sp. HOT-780_AD02	33T1BP	Firmicutes	Clostridia
<i>Dialister pneumosintes</i> HOT-736_AG34	ATCC 33048 T, 21025 CCUG T, DSM 11619, CIP 107041 T	Firmicutes	Clostridias
<i>Bulleidia extracta</i> HOT-603_AD81	DSM 13220	Firmicutes	Erysipelotrichi
<i>Solobacterium moorei</i> HOT-678_AC01	CIP 106864, JCM 10645	Firmicutes	Erysipelotrichi

**HOT:** Human oral taxon; **ATCC:** American Type Culture Collection; **DSM:** Deutsche Sammlung Von Mikroorganismen und Zellkulturen Germany; **CCUG:** Culture Collection, University of Göteborg; **CCM:** Czech Collection of Microorganisms; **CIP:** Collection Institute Pasteur; **NBRC:** National Biological Resource Center; **BCRC:** Bioresource Collection and Research Center; **NCTC:** National Collection of Type Cultures; **JCM:** Japan Collection of Microorganisms.

**Tabla 1b.** Implicaciones médicas en especies del *Phylum Firmicutes*.

Species used in HOMIM thecnique	Medical infections (MI)	Papers MI
<i>Abiotrophia defectiva</i> HOT-389_AF94	Endocarditis	(Ramos 2014)
<i>Enterococcus saccharolyticus</i> HOT-802_AG41		
<i>Gemella haemolysans</i> HOT-626 / <i>Gemella sanguinis</i> HOT-757_K63	Meningoencephalitis (HOT-626), endocarditis (HOT-757)	(Galen 2014), (Gundre 2011)
<i>Gemella haemolysans</i> HOT-626_AG51		
<i>Gemella morbillorum</i> HOT-046_AB09	Endocarditis, brain abscess	(Chekatie 2009), (Chotal 2012)
<i>Gemella sanguinis</i> HOT-757_AB17	Prosthetic valve endocarditis	
<i>Granulicatella adiacens</i> HOT-534 / <i>Granulicatella elegans</i> HOT-596_W81	Endocarditis (HOT-596)	(Ohara 2005)
<i>Granulicatella adiacens</i> HOT-534_AB30	Infective endocarditis & bacteremia	(Shailaja 2013)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> HOT-529_AC30		
<i>Lactobacillus casei</i> HOT-568 / <i>Lactobacillus paracasei</i> HOT-716 / <i>Lactobacillus rhar</i>	Intestinal microflora (HOT-716)	(Zhang 2013)
<i>Lactobacillus fermentum</i> HOT-608_E51		
<i>Lactobacillus gasserii</i> HOT-615 / <i>Lactobacillus johnsonii</i> HOT-819_V86		
<i>Staphylococcus aureus</i> HOT-550_AH29	Pemphigus vulgaris, tonsillar diseases, pneumoniae	(Esmaili 2013), (Alasii 2013), (Bahrani 2007)
<i>Streptococcus anginosus</i> HOT-543 / <i>Streptococcus gordonii</i> HOT-622_F49	Osteomyelitis, brain abscess, necrotizing fasciitis (HOT-543)	(Griffin 2013), (Kalarostaghi 1999)
<i>Streptococcus anginosus</i> HOT-543 / <i>Streptococcus gordonii</i> HOT-622_X11	Subacute bacterial endocarditis, subcutaneous abscesses, peritonitis (HOT-622)	
<i>Streptococcus australis</i> HOT-073_AH32	Tetracycline resistance, cystic fibrosis	(Tazumi 2009), (Warburton 2013)
<i>Streptococcus constellatus</i> HOT-576 / <i>Streptococcus intermedius</i> HOT-644_AB77	Recurrent tonsillitis (HOT-644)	
<i>Streptococcus constellatus</i> HOT-576 / <i>Streptococcus intermedius</i> HOT-644_F48	Endocarditis, bacterial pneumonia, pulmonary abscess (HOT-576)	(Noguchi 2014)
<i>Streptococcus cristatus</i> HOT-578_AD88		
<i>Streptococcus downei</i> HOT-594_AD67		
<i>Streptococcus infantis</i> HOT-638 / <i>Streptococcus</i> sp. HOT-065_Y74	Cystic fibrosis (HOT-638)	(Maeda 2010)
<i>Streptococcus mitis</i> bv2 HOT-398_AH36	Endocarditis	(Luca 2012)
<i>Streptococcus mutans</i> HOT-686_AC57	Infective endocarditis	(Bedran 2013)
<i>Streptococcus oralis</i> HOT-707 / <i>Streptococcus</i> sp. HOT-064_F46	Cystic fibrosis (HOT-638)	(Maeda 2010)
<i>Streptococcus parasanguinis</i> I HOT-721 / <i>Streptococcus parasanguinis</i> II HOT-411	Tetracycline-resistant	(Warburton 2013)
<i>Streptococcus pyogenes</i> HOT-745_AD94	Pharyngitis, impetigo, erisipela, cellulitis	(Andersoon 2013)
<i>Streptococcus salivarius</i> HOT-755 / <i>Streptococcus vestibularis</i> HOT-021 / <i>Streptococcus salivarius</i> HOT-755 / <i>Streptococcus vestibularis</i> HOT-021_AH39	Abscess & cellulitis, cystic fibrosis (HOT-755)	(Maeda 2010)
<i>Streptococcus sobrinus</i> HOT-768_Q60	Endocarditis, bacteraemia (HOT-021)	(Doyuk 2002)
<i>Enterococcus faecalis</i> HOT-604_N28	Diabetes foot , nosocomial pathogens	(Malecki 2014), (Parameswarappa 2013)
<i>Granulicatella elegans</i> HOT-596_AB28	Endocarditis infecciosa	(Ohara 2005)
<i>Anaeroglobus geminatus</i> HOT-121_AA56		
<i>Catonella morbi</i> HOT-165 / <i>Catonella</i> sp. HOT-164_O56		
<i>Dialister invisus</i> HOT-118_AG33		
<i>Eubacterium</i> [11][G-3] <i>brachy</i> HOT-557_O47		
<i>Eubacterium</i> [11][G-5] <i>saphenum</i> HOT-759_AA71		
<i>Eubacterium</i> [11][G-6] <i>nodatum</i> HOT-694_Y46		
<i>Eubacterium</i> [11][G-7] <i>yurii</i> HOT-377_AG46		
<i>Filifactor alocis</i> HOT-539_AA69		
<i>Megasphaera</i> sp. HOT-123_AD11		
<i>Magibacterium timidum</i> HOT-042_AB25		
<i>Parvimonas micra</i> HOT-111_AG78		
<i>Peptostreptococcaceae</i> [13][G-1] sp. HOT-113_AD07		
<i>Peptostreptococcus stomatis</i> HOT-112_AG87		
<i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> HOT-538_AB69		
<i>Selenomonas artemidis</i> HOT-124_AH15	Bacteremia	(Bisiaux 1990)
<i>Selenomonas diana</i> HOT-139_AH17		
<i>Selenomonas flueggei</i> HOT-125_AH18		
<i>Selenomonas infelix</i> HOT-639 / <i>Selenomonas</i> spp. HOT-126,479,481_AC13	Bacteremia	(Bisiaux 1990)
<i>Selenomonas noxia</i> HOT-130 / <i>Selenomonas</i> sp. HOT-140_AC04		
<i>Selenomonas</i> sp. HOT-133_M09		
<i>Selenomonas</i> sp. HOT-149,481_AB60		
<i>Selenomonas</i> spp. HOT-134,442_Y73		
<i>Selenomonas</i> spp. HOT-136,149,478_AB61		
<i>Selenomonas</i> spp. HOT-138,146,892_Q52		
<i>Veillonella atypica</i> HOT-524_W04		
<i>Veillonella dispar</i> HOT-160 / <i>Veillonella parvula</i> HOT-161_Q67		
<i>Veillonella</i> sp. HOT-780_AD02		
<i>Dialister pneumosintes</i> HOT-736_AG34	Pneumonia	(Bahrani 2007)
<i>Bulleidia extructa</i> HOT-603_AD81		
<i>Solobacterium moorei</i> HOT-678_AC01		

**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 1c.** Implicaciones odontológicas en especies del *Phylum Firmicutes*.

Species used in HOMIM thecnique	Oral infections (OI)	Papers OI
<i>Abiotrophia defectiva</i> HOT-389_AF94	Child caries	(Kanasi 2010)
<i>Enterococcus saccharolyticus</i> HOT-802_AG41		
<i>Gemella haemolysans</i> HOT-626 / <i>Gemella sanguinis</i> HOT-757_K63	Dental infection	(Gundre 2011)
<i>Gemella haemolysans</i> HOT-626_AG51	Oral squamous cell carcinoma	(Pushalkar 2012)
<i>Gemella morbillorum</i> HOT-046_AB09	Ketocystic odontogenic tumor, oral squamous cell carcinoma	(Scalas 2013), (Pushalkar 2012)
<i>Gemella sanguinis</i> HOT-757_AB17	Refractory periodontitis, oral squamous cell carcinoma	(Pushalkar 2012), (Colombo 2012)
<i>Granulicatella adiacens</i> HOT-534 / <i>Granulicatella elegans</i> HOT-596_W81	Childhood caries (HOT-596)	(Kanasi 2010)
<i>Granulicatella adiacens</i> HOT-534_AB30	Endodontic infections, refractory periodontitis	(Colombo 2009), (Hsiao 2012)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> HOT-529_AC30	Dental Caries	(Yip 2007)
<i>Lactobacillus casei</i> HOT-568 / <i>Lactobacillus paracasei</i> HOT-716 / <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HOT-749_W94	Dental caries (HOT-568)	(Lima 2012), (Erin 2010)
<i>Lactobacillus fermentum</i> HOT-608_E51	Dental caries	(Lima 2012)
<i>Lactobacillus gasseri</i> HOT-615 / <i>Lactobacillus johnsonii</i> HOT-819_V86	Dental caries (HOT-615, HOT-819)	(Gross 2010)
<i>Staphylococcus aureus</i> HOT-550_AH29	Aggressive periodontitis	(Boghossian 2013)
<i>Streptococcus anginosus</i> HOT-543 / <i>Streptococcus gordonii</i> HOT-622_F49	Normal flora in the mouth, Noma, pulpal infection (HOT-543, 622)	(Mager 2003), (Huyghe 2013), (Roberts 2013)
<i>Streptococcus anginosus</i> HOT-543 / <i>Streptococcus gordonii</i> HOT-622_X11		
<i>Streptococcus australis</i> HOT-073_AH32	Saliva	(Warburton 2013)
<i>Streptococcus constellatus</i> HOT-576 / <i>Streptococcus intermedius</i> HOT-644_AB77	Periodontal pathogens (HOT-576, 644)	(Colombo 2009), (Rams 2013)
<i>Streptococcus constellatus</i> HOT-576 / <i>Streptococcus intermedius</i> HOT-644_F48	Peri-implantitis, refractory periodontitis (HOT-576)	(Colombo 2012)
<i>Streptococcus cristatus</i> HOT-578_AD88	Severe early childhood caries, root caries	(Tanner 2011), (Preza 2008)
<i>Streptococcus downei</i> HOT-594_AD67	Dental plaque	(Yoo 2005)
<i>Streptococcus infantis</i> HOT-638 / <i>Streptococcus</i> sp. HOT-065_Y74	Tooth surface (HOT-638)	(Kawamura 1998)
<i>Streptococcus mitis</i> bv2 HOT-398_AH36	Caries progression	(Gross 2010)
<i>Streptococcus mutans</i> HOT-686_AC57	Main cariogenic specie, root caries	(Tanner 2011), (Becker 2002)
<i>Streptococcus oralis</i> HOT-707 / <i>Streptococcus</i> sp. HOT-064_F46	Formation of dental plaque, soft tissue microbiota	(Reardon 2014), (Mager 2003)
<i>Streptococcus parasanguinis</i> I HOT-721 / <i>Streptococcus parasanguinis</i> II HOT-411 / <i>Streptococcus</i> sp. HOT-057	Synergistic interaction in Aggressive Periodontitis (HOT-057, 721, 411)	(Fine 2013)
<i>Streptococcus pyogenes</i> HOT-745_AD94		
<i>Streptococcus salivarius</i> HOT-755 / <i>Streptococcus vestibularis</i> HOT-021 / <i>Streptococcus</i> sp. HOT-067_E34	Tejidos blandos (HOT-755)	(Mager 2003)
<i>Streptococcus salivarius</i> HOT-755 / <i>Streptococcus vestibularis</i> HOT-021_AH39	Vestibular mucosa of the oral cavity (HOT-021)	(Doyuk 2002)
<i>Streptococcus sobrinus</i> HOT-768_Q60	Dental caries	(Okada 2012)
<i>Enterococcus faecalis</i> HOT-604_N28	Root caries, periapical infections, periodontal disease	(Preza 2008), (Colombo 2002)
<i>Granulicatella elegans</i> HOT-596_AB28	Early childhood caries	(Kanasi 2010)
<i>Anaeroglobus geminatus</i> HOT-121_AA56	Infected root canals	(Chugal 2011)
<i>Catonella morbi</i> HOT-165 / <i>Catonella</i> sp. HOT-164_O56	Endodontic infections (HOT-165)	(Siqueira 2006)
<i>Dialister invisus</i> HOT-118_AG33	Peri-implantitis, root canal infections, refractari periodontitis	(da Silva 2012), (Colombo 2009)
<i>Eubacterium</i> [11][G-3] <i>brachy</i> HOT-557_O47	Peri-implantitis	(Tamura 2013)
<i>Eubacterium</i> [11][G-5] <i>sophenum</i> HOT-759_AA71	Periodontal disease, peri-implantitis	(Booth 2004), (Mayanagi 2004), (Tamura 2013)
<i>Eubacterium</i> [11][G-6] <i>nodatum</i> HOT-694_Y46	Periodontal pathogen, peri-implantitis	(Booth 2004), (Colombo 2009), (Tamura 2013)
<i>Eubacterium</i> [11][G-7] <i>yurii</i> HOT-377_AG46	Endodontic infections	(Hsiao 2012)
<i>Fillfactor aloclis</i> HOT-539_AA69	Synergistic interaction in Aggressive Periodontitis	(Fine 2013), (Colombo 2009)
<i>Megasphaera</i> sp. HOT-123_AD11	Periodontitis	(Teles 2013)
<i>Mogibacterium timidum</i> HOT-042_AB25	Generalized chronic periodontitis,	(Casarin 2012), (Mayanagi 2004)
<i>Parvimonas micra</i> HOT-111_AG78	Putative periodontal pathogens, chronic periodontitis	(Belstrom 2013), (Colombo 2009), (Teles 2010)
<i>Peptostreptococcaceae</i> [13][G-1] sp. HOT-113_AD07	Periodontopathogen	(Colombo 2009)
<i>Peptostreptococcus stomatis</i> HOT-112_AG87	oral squamous cell carcinoma, peri-implantitis	(Pushalkar 2012), (Koyanagi 2010)
<i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> HOT-538_AB69	Refractory periodontitis, infected root canals, root caries	(Colombo 2009), (Siqueira 2007), (Preza 2008)
<i>Selenomonas artemidis</i> HOT-124_AH15	buccal flora, refractory periodontitis	(Bisiaux 1990), (Colombo 2012)
<i>Selenomonas diana</i> HOT-139_AH17	generalized aggressive periodontitis	(Goncalves 2012)
<i>Selenomonas flueggei</i> HOT-125_AH18	Ability to coaggregate with fusobacterium, halitosis	(Kolenbrander 1989), (Tyrrell 2003)
<i>Selenomonas infelix</i> HOT-639 / <i>Selenomonas</i> spp. HOT-126,479,481_AC13	Refractory periodontitis, ability to coaggregate/fusobacterium (HOT-639)	(Colombo 2009), (Kolenbrander 1989)
<i>Selenomonas noxia</i> HOT-130 / <i>Selenomonas</i> sp. HOT-140_AC04	Biofilm natural teeth, putative periodontal pathogens (HOT-130)	(Teles 2012), (Colombo 2012)
<i>Selenomonas</i> sp. HOT-133_M09	Refractory periodontitis	(Colombo 2009)
<i>Selenomonas</i> sp. HOT-149,481_AB60	Refractory periodontitis (HOT-149)	(Colombo 2009)
<i>Selenomonas</i> spp. HOT-134,442_Y73	Refractory periodontitis	(Colombo 2009)
<i>Selenomonas</i> spp. HOT-136,149,478_AB61	Refractory periodontitis (HOT-136, 478)	(Colombo 2009)
<i>Selenomonas</i> spp. HOT-138,146,892_Q52	insertion loss sites	(Colombo 2009)
<i>Veillonella atypica</i> HOT-524_W04	Refractory periodontitis	(Colombo 2009)
<i>Veillonella dispar</i> HOT-160 / <i>Veillonella parvula</i> HOT-161_Q67	Dental plaque, periodontitis DM (HOT-160), childhood caries (HOT-161)	(Casarin 2012)(Gmur 2000), (Tanner 2011)
<i>Veillonella</i> sp. HOT-780_AD02	Periodontitis	(Teles 2013)
<i>Dialister pneumosintes</i> HOT-736_AG34	Endodontic infections, necrosis, chronic periodontitis, Viral-bacterial synergism	(Boghossian 2013), (Ferreira 2011), (Slots 2010)
<i>Bulleidia extracta</i> HOT-603_AD81	NUP in HIV	(Paster 2002)
<i>Solobacterium moorei</i> HOT-678_AC01	Halitosis, peri-implantitis	(Mager, 2003), (Kazor 2003), (Koyanagi 2010)

**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 2a.** Generalidades especies del *Phylum Actinobacteria*.

Species used in HOMIM thecnique	Strain/Culture/Collection (Main examples)	Phyla	Class
<i>Actinomyces georgiae</i> HOT-617_AG01	ATCC 49285, ATCC 51891, ATCC 51892	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Actinomyces gerencseriae</i> HOT-618_AG03	ATCC 23860, ATCC 27036, ATCC 27037, ATCC 29322	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Actinomyces israelii</i> HOT-645_AG04	ATCC 12102, ATCC 10048, ATCC 10049, ATCC 12597	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Actinomyces meyeri</i> HOT-671 / <i>Actinomyces odontolyticus</i> HOT-701_AG08	ATCC 17982, DSM 43331 (HOT 701)	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Actinomyces meyeri</i> HOT-671_AG06	ATCC 35568, ATCC 33972	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Actinomyces naeslundii</i> HOT-176_AC71	ATCC 12104, JCM 8349, NCTC 10301	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Actinomyces</i> sp. HOT-170_T61	304H17BP	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Atopobium parvulum</i> HOT-723_X29	ATCC 22793, CCUG 32760 T, CIP 102970 T, DSM 20469 T	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Atopobium rimae</i> HOT-750_K24	CCUG 38789	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Bifidobacterium dentium</i> HOT-588_AA62	ATCC 27679, JCVIHP022, ATCC 27678, Bd1	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Corynebacterium matruchotii</i> HOT-666_AG29	ATCC 33806, ATCC 14266	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Cryptobacterium curtum</i> HOT-579_AG31	DSM 15641, ATCC 700683, 12-3T	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Olsenella uli</i> HOT-038 / <i>Olsenella</i> sp. HOT-807_AB87	ATCC 49627 T, CCUG 31166 T, DSM 7084 T (HOT-38); F0004 (HOT-807)	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Propionibacterium acidifaciens</i> HOT-191_AA54	AB565481	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Propionibacterium acnes</i> HOT-530_AB73	ATCC 11828	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Propionibacterium propionicum</i> HOT-739_AB71	ATCC 13682	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Rothia dentocariosa</i> HOT-587 / <i>Rothia mucilaginoso</i> HOT-681_E52	ATCC 25296, DSM 20746 (HOT-681)	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Rothia dentocariosa</i> HOT-587_Q66	ATCC 17931, CCM 7007, CCUG 35437, CDC X599 (HOT-587)	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Scardovia inopinata</i> HOT-642_AB32	CCUG 35729 T, CGMCC 1.2187 T, DSM 10107 T	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Scardovia wiggisiae</i> HOT-195_Q56	CCUG 58090 T, DSM 22547 T	Actinobacteria	Actinobacteria
<i>Slackia exigua</i> HOT-602_AH25	ATCC 700122	Actinobacteria	Actinobacteria

**HOT:** Human oral taxon; **ATCC:** American Type Culture Collection; **DSM:** Deutsche Sammlung Von Mikroorganismen und Zellkulturen Germany; **NCTC:** National Collection of Type Cultures; **CCUG:** Culture Collection, University of Göteborg; **CCM:** Czech Collection of Microorganisms; **CIP:** Collection Institute Pasteur; **JCM:** Japan Collection of Microorganisms; **CGMCC:** China General Microbiological Culture Collection Center.

**Tabla 2b.** Implicaciones médicas en especies del *Phylum Actinobacteria*.

Species used in HOMIM thecnique	Medical infections (MI)	Papers MI
<i>Actinomyces georgiae</i> HOT-617_AG01		
<i>Actinomyces gerencseriae</i> HOT-618_AG03		
<i>Actinomyces israelii</i> HOT-645_AG04	Actinomycosis pelvic & cervicofacial, canaculitis	(Yuksel 2012)
<i>Actinomyces meyeri</i> HOT-671 / <i>Actinomyces odontolyticus</i> HOT-701_AG08	Lung abscess (HOT-701)	(Takiguchi 2003)
<i>Actinomyces meyeri</i> HOT-671_AG06	Chronic spondylitis	(Duvignaud 2014)
<i>Actinomyces naeslundii</i> HOT-176_AC71	Rare causes of liver abscesses.	(Jaqua 2013)
<i>Actinomyces</i> sp. HOT-170_T61		
<i>Atopobium parvulum</i> HOT-723_X29		
<i>Atopobium rimae</i> HOT-750_K24	Bacteremia	(Chung 2007)
<i>Bifidobacterium dentium</i> HOT-588_AA62	Intestinal microbiota	(Turroni 2009)
<i>Corynebacterium matruchotii</i> HOT-666_AG29	Bacterionema	(Schmidt 1962)
<i>Cryptobacterium curtum</i> HOT-579_AG31		
<i>Olsenella uli</i> HOT-038 / <i>Olsenella</i> sp. HOT-807_AB87		
<i>Propionibacterium acidifaciens</i> HOT-191_AA54		
<i>Propionibacterium acnes</i> HOT-530_AB73	Chronic prostatic inflammation	(Bae 2014)
<i>Propionibacterium propionicum</i> HOT-739_AB71	Pelvic actinomycosis-like disease	(Wunderink 2011)
<i>Rothia dentocariosa</i> HOT-587 / <i>Rothia mucilaginoso</i> HOT-681_E52	Meningitiss (HOT-681)	(Lee 2008)
<i>Rothia dentocariosa</i> HOT-587_Q66	Peritoneal dialysis-related peritonitis	(Morris 2004)
<i>Scardovia inopinata</i> HOT-642_AB32	Gastritis	(Mattarelli 2014)
<i>Scardovia wiggisiae</i> HOT-195_Q56		
<i>Slackia exigua</i> HOT-602_AH25	Wound infections	(Kim 2010)

**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 2c.** Implicaciones odontológicas del *Phylum Actinobacteria*.

Species used in HOMIM thecnique	Oral infections (OI)	Papers OI
<i>Actinomyces georgiae</i> HOT-617_AG01	Supra- and subgingival microbiota	(Kiménez-Fyvie 1999)
<i>Actinomyces gerencseriae</i> HOT-618_AG03	Severe early childhood caries	(Tanner 2011), (Becker 2002)
<i>Actinomyces israelii</i> HOT-645_AG04	Periodontal flora, sites treated with orthodontic bands	(Johnson 1999), (Kim 2010)
<i>Actinomyces meyeri</i> HOT-671 / <i>Actinomyces odontolyticus</i> HOT-701_AG08	HOT-701 Primary caries, healthy periodontium	(Kiménez-Fyvie 2003)
<i>Actinomyces meyeri</i> HOT-671_AG06	Periodontal infections from HIV+ subjects, radicular cysts	(Brito 2012), (Tek 2013)
<i>Actinomyces naeslundii</i> HOT-176_AC71	of teeth treated with orthodontic bands, dental plaque	(Kim 2010), (Mager 2003)
<i>Actinomyces</i> sp. HOT-170_T61	Periodontal health (HOT-681)	(Colombo 2009)
<i>Atopobium parvulum</i> HOT-723_X29	Periodontal pathogen, halitosis	(Colombo 2009), (Kazor 2003)
<i>Atopobium rimae</i> HOT-750_K24	Periodontal health, putative pathogen	(Colombo 2009), (Kumar 2003)
<i>Bifidobacterium dentium</i> HOT-588_AA62	Root caries	(Mantzourani 2009)
<i>Corynebacterium matruchotii</i> HOT-666_AG29	Calculus formation, Endodontic infections	(Moorer 1993)
<i>Cryptobacterium curtum</i> HOT-579_AG31	Dental abscess, periodontal disease	(Sakamoto 2006), (Kumar 2003)
<i>Olsenella uli</i> HOT-038 / <i>Olsenella</i> sp. HOT-807_AB87	Endodontic pathogens	(Rocas 2010)
<i>Propionibacterium acidifaciens</i> HOT-191_AA54	Adult caries	(Wolff 2013)
<i>Propionibacterium acnes</i> HOT-530_AB73	Aggressive periodontitis, gingivitis	(Silva-Boghossian 2013), (Socransky 2005)
<i>Propionibacterium propionicum</i> HOT-739_AB71	Radicular cysts.	(Tek 2013)
<i>Rothia dentocariosa</i> HOT-587 / <i>Rothia mucilaginosa</i> HOT-681_E52	Periodontal health (HOT-681)	(Colombo 2009)
<i>Rothia dentocariosa</i> HOT-587_Q66	Initial carious root lesions (HOT-587)	(Munson 2004)
<i>Scardovia inopinata</i> HOT-642_AB32		
<i>Scardovia wiggisiae</i> HOT-195_Q56	Severe early childhood caries	(Tanner 2011)
<i>Slackia exigua</i> HOT-602_AH25	Severe early childhood caries, periodontal disease	(Tanner 2011), (Booth 2004)

**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 3a.** Generalidades especies del *Phylum Fusobacteria*.

Species used in HOMIM thecnique	Strain/Culture/Collection (Main examples)	Phyla	Class
<i>Fusobacterium naviforme</i> HOT-689 / <i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>vincentii</i> HOT-200	ATCC 25832, CUG 50052, (HOT-689) ATCC 49256 (HOT-200)	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>Polymorphum</i> HOT-202	ATCC 10953	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>
<i>Fusobacterium periodonticum</i> HOT-201_R20	ATCC 33693	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>
<i>Leptotrichia buccalis</i> HOT-563_AG64	ATCC 14201, ATCC 14201	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>
<i>Leptotrichia hofstadii</i> HOT-224 / <i>Leptotrichia</i> sp. HOT-223_Y55	Not yet cultivated (HOT-223)	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>
<i>Leptotrichia hofstadii</i> HOT-224_AG66	F0254	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>
<i>Leptotrichia</i> sp. HOT-215_AG67	None, not yet cultivated	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>
<i>Leptotrichia wadei</i> HOT-222 / <i>Leptotrichia</i> sp. HOT-417_AA60	DSM 19758 (HOT-215),	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>
<i>Leptotrichiaceae</i> [G-1] spp. HOT-210,220_AD17	None, not yet cultivated	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>
<i>Leptotrichiaceae</i> [G-1] spp. HOT-210,220_Y92	None, not yet cultivated	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>

**HOT:** Human oral taxon; **ATCC:** American Type Culture Collection; **DSM:** Deutsche Sammlung Von Mikroorganismen und Zellkulturen Germany.

**Tabla 3b.** Implicaciones médicas especies del *Phylum Fusobacteria*.

Species used in HOMIM thecnique	Medical infections (MI)	Papers MI
<i>Fusobacterium naviforme</i> HOT-689 / <i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>vincentii</i> HOT-200_M22		
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>polymorphum</i>		
<i>Fusobacterium periodonticum</i> HOT-201_R20		
<i>Leptotrichia buccalis</i> HOT-563_AG64	Bacteremia	(Schwartz 1995; Vemelen 1996; Weinberger 1991; Reig 1985)
<i>Leptotrichia hofstadii</i> HOT-224 / <i>Leptotrichia</i> sp. HOT-223_Y55		
<i>Leptotrichia hofstadii</i> HOT-224_AG66		
<i>Leptotrichia</i> sp. HOT-215_AG67		
<i>Leptotrichia wadei</i> HOT-222 / <i>Leptotrichia</i> sp. HOT-417_AA60		
<i>Leptotrichiaceae</i> [G-1] spp. HOT-210,220_AD17		
<i>Leptotrichiaceae</i> [G-1] spp. HOT-210,220_Y92		

**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 3c.** Generalidades especies del *Phylum Fusobacteria*.

Species used in HOMIM thecnique	Oral infections (OI)	Papers OI
<i>Fusobacterium naviforme</i> HOT-689 / <i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>vincentii</i> HOT-200	Refractory periodontitis (HOT 689), gingivitis (HOT-200, 689)	(Colombo 2009), (Socransky 2005)
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>polymorphum</i>	Root caries, chronic periodontitis	(Preza 2008), (Teles 2010)
<i>Fusobacterium periodonticum</i> HOT-201_R20	Putative perio-pathogens, halitosis, gingivitis	(Kazar 2003), (Socransky 2005)
<i>Leptotrichia buccalis</i> HOT-563_AG64	Primary endodontic infections, oral malodor, gingivitis	(Socransky 2005)
<i>Leptotrichia hofstadii</i> HOT-224 / <i>Leptotrichia</i> sp. HOT-223_Y55		
<i>Leptotrichia hofstadii</i> HOT-224_AG66		
<i>Leptotrichia</i> sp. HOT-215_AG67		
<i>Leptotrichia wadei</i> HOT-222 / <i>Leptotrichia</i> sp. HOT-417_AA60		
<i>Leptotrichiaceae</i> [G-1] spp. HOT-210,220_AD17		
<i>Leptotrichiaceae</i> [G-1] spp. HOT-210,220_Y92		

**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 4a.** Generalidades especies del *Phylum Bacteroidetes*.

Species used in HOMIM thecnique	Strain/Culture/Collection (Main examples)	Phyla	Class
<i>Bacteroidaceae</i> [G-1] sp. HOT-272_X17	F0290	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Bacteroidales</i> [G-2] sp. HOT-274_AG14	F0058	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Bacteroides heparinolyticus</i> HOT-630_N91	ATCC 35895	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Porphyromonas catoniae</i> HOT-283 / <i>Porphyromonas</i> sp. HOT-279_N95	ATCC 51270 (HOT-283), F0030 (HOT-279)	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Porphyromonas endodontalis</i> HOT-273 / <i>Porphyromonas</i> sp. HOT-285,395_W78	ATCC 35406 (HOT-299)	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Porphyromonas endodontalis</i> HOT-273_AG88	ATCC 35406	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Porphyromonas gingivalis</i> HOT-619_AA93	ATCC 33277, ATCC 53978	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella buccae</i> HOT-560_Y63	ATCC 33574	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella dentalis</i> HOT-583_AG89	DSM 3688, ATCC 49559	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella denticola</i> HOT-291_K73	CRIS 18C-A, ATCC 35308, F0289	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella histicola</i> HOT-298 / <i>Prevotella melaninogenica</i> HOT-469_T81	F0411 (HOT-298), ATCC 25845 (HOT-469)	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella intermedia</i> HOT-643_AB92	ATCC 25611	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella loescheii</i> HOT-658 / <i>Prevotella</i> spp. HOT-317,472_Y65	ATCC 15930, ATCC 43852 (HOT-658)	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella melaninogenica</i> HOT-469_AG92	ATCC 25845, ATCC 43982, ATCC 700524	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella nigrescens</i> HOT-693_AG93	ATCC 25261	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella oris</i> HOT-311_AG94	ATCC 27518, ATCC 33573	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella oulora</i> HOT-288_AG97	ATCC 43324, ATCC 51260	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella pallens</i> HOT-714 / <i>Prevotella</i> sp. HOT-310_R67	ATCC 700821	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella salivae</i> HOT-307_AC96	CCUG 51934 T	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Prevotella</i> sp. HOT-306	15T29AP	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Tannerella forsythia</i> HOT-613_X56	ATCC 43037 T, CCUG 21028 AT	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Tannerella</i> sp. HOT-286_AH40	None, not yet cultivated	Bacteroidetes	Bacteroides
<i>Capnocytophaga gingivalis</i> HOT-337_O04	ATCC 33624 T, CCM 3710 T, CCTM La 3492 T, CCUG 9715 T	Bacteroidetes	Flavobacteria
<i>Capnocytophaga granulosa</i> HOT-325_AG23	ATCC 51502 T, B0611 T, CCUG 32991 T, CIP 104128 T, DSM 11449 T	Bacteroidetes	Flavobacteria
<i>Capnocytophaga leadbetteri</i> HOT-329_AG24	CCUG 51857 T, NCTC 13375 T	Bacteroidetes	Flavobacteria
<i>Capnocytophaga ochracea</i> HOT-700 / <i>Capnocytophaga</i> sp. HOT-323,326,864_Y83	ATCC 27872, ATCC 33596	Bacteroidetes	Flavobacteria
<i>Capnocytophaga sputigena</i> HOT-775_AC15	ATCC 33612	Bacteroidetes	Flavobacteria

**HOT:** Human oral taxon; **ATCC:** American Type Culture Collection; **DSM:** Deutsche Sammlung Von Mikroorganismen und Zellkulturen Germany; **CCUG:** Culture Collection, University of Göteborg; **CCM:** Czech Collection of Microorganisms; **CIP:** Collection Institute Pasteur; **NCTC:** National Collection of Type Cultures; **CCTM:** Centre de Collection de Types Microbien.

**Tabla 4b.** Implicaciones médicas y odontológicas de especies del *Phylum Bacteroidetes*.

Species used in HOMIM thecnique	Medical infections (MI)	Papers MI	Oral infections (OI)	Papers OI
<i>Bacteroidaceae</i> [G-1] sp. HOT-272_X17			Refractory periodontitis	(Colombo 2009)
<i>Bacteroidales</i> [G-2] sp. HOT-274_AG14			Refractory periodontitis	(Kumar 2003), (Colombo 2009)
<i>Bacteroides heparinolyticus</i> HOT-630_N91			Subgingival plaque	(Ashimoto 1995)
<i>Porphyromonas catoniae</i> HOT-283 / <i>Porphyromonas</i> sp. HOT-279_N95			Periodontitis (HOT-283)	(de Lilo 2004)
<i>Porphyromonas endodontalis</i> HOT-273 / <i>Porphyromonas</i> sp. HOT-285,395_W78			Endodontic infections, Viral-bacterial synergism (HOT-273)	(Ferreira 2011), (Rocas 2010)
<i>Porphyromonas endodontalis</i> HOT-273_AG88			Endodontic infections, apical periodontitis, Periodontopathogen	(Colombo 2009)
<i>Porphyromonas gingivalis</i> HOT-619_AA93	Rheumatoid arthritis	(Maresz 2013)	Periodontopathogen	(Colombo 2009), (Teles 2010)
<i>Prevotella buccae</i> HOT-560_Y63	Peritonsillar abscess	(Civen 1993)	Radicular cysts	(Tek 2013)
<i>Prevotella dentalis</i> HOT-583_AG89			Subgingival plaque	(Sakamoto 2005)
<i>Prevotella denticola</i> HOT-291_K73			Associations chronic periodontitis	(Kumas 2003)
<i>Prevotella histicola</i> HOT-298 / <i>Prevotella melaninogenica</i> HOT-469_T81	Recurrent tonsillitis (HOT-469)	(Jensen 2013)	Severe early childhood caries, periodontal putative (HOT-469)	(Haffajee 2004), (Tanner 2011)
<i>Prevotella intermedia</i> HOT-643_AB92	Noma	(Huyghe 2013)	Periodontal putative, peri-implantitis	(Haffajee 2004), (Tamura 2013)
<i>Prevotella loescheii</i> HOT-658 / <i>Prevotella</i> spp. HOT-317,472_Y65	Septic arthritis	(Fe Marqués 2008)	Periodontitis (HOT-658)	(Kamma 2000)
<i>Prevotella melaninogenica</i> HOT-469_AG92	Recurrent tonsillitis	(Jensen 2013)	Putative pathogen, halitosis	(Haffajee 2004), (Roggio 2008)
<i>Prevotella nigrescens</i> HOT-693_AG93	Blood stream infection	(Mättö 1997)	Putative pathogen, chronic periodontitis, childhood caries	(Boghossian 2013), (Tanner 2011)
<i>Prevotella oris</i> HOT-311_AG94			Periodontitis	(Sato 2012)
<i>Prevotella oulora</i> HOT-288_AG97			Refractory periodontitis	(Colombo 1998)
<i>Prevotella pallens</i> HOT-714 / <i>Prevotella</i> sp. HOT-310_R67			Halitosis (HOT-714)	(Roggio 2008)
<i>Prevotella salivae</i> HOT-307_AC96			Endodontic infections	(Hsiao 2012)
<i>Prevotella</i> sp. HOT-306			Chronic periodontitis	(Teles 2010)
<i>Tannerella forsythia</i> HOT-613_X56	Rheumatoid arthritis	(Wolff 2014)	Periodontopathogen	(Colombo 2009)
<i>Tannerella</i> sp. HOT-286_AH40			Periodontal health, periodontitis	(Leys 2002), (de Lilo 2004)
<i>Capnocytophaga gingivalis</i> HOT-337_O04			Soft tissue	(Mager 2003)
<i>Capnocytophaga granulosa</i> HOT-325_AG23			Subgingival plaque	(Ciantar 2001)
<i>Capnocytophaga leadbetteri</i> HOT-329_AG24			Resident oral flora	(Frandsen 2008)
<i>Capnocytophaga ochracea</i> HOT-700 / <i>Capnocytophaga</i> sp. HOT-323,326,864_Y83	Sepsis & Brain abscess	(Wang 2007)	Resident oral flora (HOT-700)	(Frandsen 2008)
<i>Capnocytophaga sputigena</i> HOT-775_AC15			Periodontitis	(Colombo 2012)

**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 5a.** Generalidades especies del *Phylum Proteobacteria*.

Species used in HOMIM thecnique	Strain culture/Collection (Main examples)	Phyla	Class
<i>Brevundimonas diminuta</i> HOT-590_AC90	ATCC 11568, 470-4, ATCC 13184	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
<i>Ochrobactrum anthropi</i> HOT-544_AB24	ATCC 11425, DSM 20150	Proteobacteria	Alphaproteobacteria
<i>Eikenella corrodens</i> HOT-577 / <i>Kingella denitrificans</i> HOT-582 / <i>Kingella</i> sp. HOT-012_AD98	ATCC 23834 T, BCRC 14415 T, CCRC 14415 T, CCUG 2138 T	Proteobacteria	Betaproteobacteria
<i>Kingella oralis</i> HOT-706_AA77	ATCC 51147 T, CCM 4589 T, 30450 CCUG T, CIP 103803 T	Proteobacteria	Betaproteobacteria
<i>Lautropia mirabilis</i> HOT-022_X44	ATCC 51599	Proteobacteria	Betaproteobacteria
<i>Neisseria elongata</i> HOT-598_AA75	ATCC 25295 T, Bövre M2 T, CCUG 2043 T	Proteobacteria	Betaproteobacteria
<i>Neisseria flavescens</i> HOT-610_AG70	ATCC 13120 T, Branham N155 T, CCM 2827 T, CCUG 17913 T	Proteobacteria	Betaproteobacteria
<i>Neisseria oralis</i> HOT-014 / <i>Eikenella</i> sp. HOT-011_Y57	DSM 25276 T, LMG 26725 T (HOT-014); Unnamed cultivated taxon (HOT-011)	Proteobacteria	Betaproteobacteria
<i>Campylobacter concisus</i> HOT-575 / <i>Campylobacter rectus</i> HOT-748_T86	RM3267, ATCC 33238, CCUG 20446 (HOT-748)	Proteobacteria	Epsilonproteobacteria
<i>Campylobacter curvus</i> HOT-580 / <i>Campylobacter rectus</i> HOT-748 / <i>Campylobacter showae</i> HOT-763	DSM 6644, 525.92, ATCC 33567, LMG 11035, VPI 10659	Proteobacteria	Epsilonproteobacteria
<i>Campylobacter gracilis</i> HOT-623_Q04	BCRC 16116, CCRC 16116	Proteobacteria	Epsilonproteobacteria
<i>Campylobacter showae</i> HOT-763_W36	ATCC 51146 T, CCUG 30254 T, DSM 19458	Proteobacteria	Epsilonproteobacteria
<i>Acinetobacter baumannii</i> HOT-554_AD86	ATCC 19606, ATCC 17978	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> HOT-531_P02	ATCC 33384 T, CCUG 3711, CIP 52.105	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria
<i>Aggregatibacter segnis</i> HOT-762 / <i>Aggregatibacter</i> sp. HOT-512_AA78	ATCC 33393 T, CCM 6052 T, CCTM La 3079 T (HOT-762); 55H50BA (HOT-512)	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria
<i>Cardiobacterium hominis</i> HOT-633_AD16	ATCC 15826	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria
<i>Escherichia coli</i> HOT-574_AA74	ATCC 27235	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria
<i>Haemophilus parainfluenzae</i> HOT-718_W79	ATCC 33392 T, 12836 CCUG T, CIP 102513 T	Proteobacteria	Gammaaproteobacteria

**HOT:** Human oral taxon; **ATCC:** American Type Culture Collection; **DSM:** Deutsche Sammlung Von Mikroorganismen und Zellkulturen Germany; **CCUG:** Culture Collection, University of Göteborg; **CCM:** Czech Collection of Microorganisms; **CIP:** Collection Institute Pasteur; **LMG:** Laboratorium voor Microbiologie, Universiteit Gent; **BCRC:** Bioresource Collection and Research Center; **CCRC:** mismo que BCRC.

**Tabla 5b.** Implicaciones médicas de especies del *Phylum Proteobacteria*.

Species used in HOMIM thecnique	Medical infections (MI)	Papers MI
<i>Brevundimonas diminuta</i> HOT-590_AC90	NOMA	(Paster 2002)
<i>Ochrobactrum anthropi</i> HOT-544_AB24	NOMA	(Paster 2002)
<i>Eikenella corrodens</i> HOT-577 / <i>Kingella denitrificans</i> HOT-582 / <i>Kingella</i> sp. HOT-012_AD98	Endocarditis infecciosa (HOT-577) gastric dysbiosis (HOT-582)	(Suresh 2013), (Okamoto 2013)
<i>Kingella oralis</i> HOT-706_AA77		
<i>Lautropia mirabilis</i> HOT-022_X44	Cystic fibrosis	(Ben Dekhil 1997)
<i>Neisseria elongata</i> HOT-598_AA75	Septic arthritis	(Saha 2009)
<i>Neisseria flavescens</i> HOT-610_AG70	Meningitidis	(Maggs 1998)
<i>Neisseria oralis</i> HOT-014 / <i>Eikenella</i> sp. HOT-011_Y57		
<i>Campylobacter concisus</i> HOT-575 / <i>Campylobacter rectus</i> HOT-748_T86	Inflammatory bowel disease(Hot-575)	(Mahendran 2013)
<i>Campylobacter curvus</i> HOT-580 / <i>Campylobacter rectus</i> HOT-748 / <i>Campylobacter showae</i> HOT-763	liver abscesses (HOT-580)	(Wetsch 2006)
<i>Campylobacter gracilis</i> HOT-623_Q04	Osteoradionecrosis	(Aas 2010)
<i>Campylobacter showae</i> HOT-763_W36	Bacteremia	(Suzuki 2013)
<i>Acinetobacter baumannii</i> HOT-554_AD86	Nosocomial	(Martins 2014)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> HOT-531_P02	Arterial Disease	(Figuera 2014)
<i>Aggregatibacter segnis</i> HOT-762 / <i>Aggregatibacter</i> sp. HOT-512_AA78		
<i>Cardiobacterium hominis</i> HOT-633_AD16	Endocarditis	(Suresh 2013)
<i>Escherichia coli</i> HOT-574_AA74	NOMA	(Paster 2002)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i> HOT-718_W79	Septic arthritis and osteomyelitis	(Hong 2014)

**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 5c.** Implicaciones odontológicas de especies del *Phylum Proteobacteria*.

Species used in HOMIM technique	Oral infections (OI)	Papers OI
<i>Brevundimonas diminuta</i> HOT-590_AC90	Refractory periodontitis	(Colombo 2009)
<i>Ochrobactrum anthropi</i> HOT-544_AB24		
<i>Eikenella corrodens</i> HOT-577 / <i>Kingella denitrificans</i> HOT-582 / <i>Kingella</i> sp. HOT-012_AD98	Periodontopathogen (HOT-577)	(Haffajee 2004)
<i>Kingella oralis</i> HOT-706_AA77	Root caries	(Preza 2008)
<i>Lautropia mirabilis</i> HOT-022_X44	Periodontal health	(Colombo 2009)
<i>Neisseria elongata</i> HOT-598_AA75	Periodontitis	(Colombo 2012)
<i>Neisseria flavescens</i> HOT-610_AG70	Salud oral, dental plaque	(Dewhirst 1993)
<i>Neisseria oralis</i> HOT-014 / <i>Eikenella</i> sp. HOT-011_Y57	Gingival plaque (HOT-014)	(Wolfgang 2012)
<i>Campylobacter concisus</i> HOT-575 / <i>Campylobacter rectus</i> HOT-748_T86	Salud oral, Putative periodontal pathogen (HOT-748)	(Aas 2008), (Haffajee 2006)
<i>Campylobacter curvus</i> HOT-580 / <i>Campylobacter rectus</i> HOT-748 / <i>Campylobacter showae</i> HOT-763	Gingival crevice (HOT-580, 748)	(Etoh 1993)
<i>Campylobacter gracilis</i> HOT-623_Q04	Dental caries, periodontal pathogens	(Aas 2008), (Colombo 2009)
<i>Campylobacter showae</i> HOT-763_W36	Supragingival biofilms with periodontitis	(Teles 2012)
<i>Acinetobacter baumannii</i> HOT-554_AD86	Chronic periodontitis	(Silva-Boghossian 2013)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> HOT-531_P02	Synergistic interaction in Aggressive Periodontitis, peri-implantitis	(Fine 2013)
<i>Aggregatibacter segnis</i> HOT-762 / <i>Aggregatibacter</i> sp. HOT-512_AA78	Periapical lesions in deciduous teeth (HOT-762)	(Shang 2013)
<i>Cardiobacterium hominis</i> HOT-633_AD16	Periodontal health	(Colombo 2009)
<i>Escherichia coli</i> HOT-574_AA74	Periodontal disease, periapical lesions in deciduous teeth	(Colombo 2002), (Shang 2013)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i> HOT-718_W79	Periodontal health (HOT-681)	(Colombo 2009)

**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 6a.** Generalidades especies del *Phylum Spirochaete*.

Species used in HOMIM technique	Strain culture/Collection (Main examples)	Phyla	Class
<i>Treponema</i> Cluster II_AC43		<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>
<i>Treponema denticola</i> HOT-584_O40	ATCC 35404	<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>
<i>Treponema lecithinolyticum</i> HOT-653_AB07	OMZ 684T, ATCC 700332	<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>
<i>Treponema maltophilum</i> HOT-664_Q01	ATCC 51939	<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>
<i>Treponema medium</i> HOT-667_W76	ATCC 700293 T	<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>
<i>Treponema parvum</i> HOT-724_AC39	ATCC 700770	<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>
<i>Treponema socranskii</i> HOT-769 / <i>Treponema</i> sp. HOT-268_Y95	ATCC 35535, ATCC 35536 (HOT-590) Smibert D120 (HOT-268)	<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>
<i>Treponema putidum</i> HOT-743	ATCC 700334 T, CIP 108088 T, JZC3 T, OMZ 758 T	<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>
<i>Treponema</i> sp. HOT-230	None, not yet cultivated	<i>Spirochaetes</i>	<i>Spirochaetes</i>

**HOT:** Human oral taxon; **ATCC:** American Type Culture Collection; **CIP:** Collection Institute Pasteur.

**Tabla 6b.** Implicaciones médicas y odontológicas en especies del *Phylum Spirochaete*.

Species used in HOMIM technique	Medical infections (MI)	Papers MI	Oral infections (OI)	Papers OI
<i>Treponema</i> Cluster II_AC43				
<i>Treponema denticola</i> HOT-584_O40	Coronary artery disease	(Mahendra 2013)	Periodontopathogen, Viral-bacterial synergism	(Ferreira 2011)
<i>Treponema lecithinolyticum</i> HOT-653_AB07			Endodontic infections, periodontitis	(Wyss 1999)
<i>Treponema maltophilum</i> HOT-664_Q01			Endodontic infections, periodontal disease	(Dewhirst 2000), (Wyss 1999)
<i>Treponema medium</i> HOT-667_W76			Root canal infection	(Siqueira 2003)
<i>Treponema parvum</i> HOT-724_AC39			Chronic apical periodontitis	(Rocas 2005)
<i>Treponema socranskii</i> HOT-769 / <i>Treponema</i> sp. HOT-268_Y95	Alzheimer's disease.	(Riviere 2002)	Periodontopathogen, Endodontic infections, periimplantitis (HOT-769)	(Colombo 2009), (Haffajee 2004)
<i>Treponema putidum</i> HOT-743			Chronic apical periodontitis	(Rocas 2005)
<i>Treponema</i> sp. HOT-230			Periodontitis	(Griffen 2012)

**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 7a.** Generalidades especies del *Phylum* TM7.

Species used in HOMIM	Strain culture/Collection (Main examples)	Phyla	Class
<i>TM7[G-1] sp. HOT-347 / TM7[G-2] sp. HOT-350_Y77</i>	None, not yet cultivated	TM7	TM7[C-1]
<i>TM7[G-1] spp. HOT-346,347_AH43</i>	None, not yet cultivated	TM7	TM7[C-1]
<i>TM7[G-1] spp. HOT-346,349_W85</i>	None, not yet cultivated	TM7	TM7[C-1]
<i>TM7[G-5] sp. HOT-356_AH42</i>	None, not yet cultivated	TM7	TM7[C-1]
<i>TM7[G-5] spp. HOT-356,437_O32</i>	None, not yet cultivated	TM7	TM7[C-1]

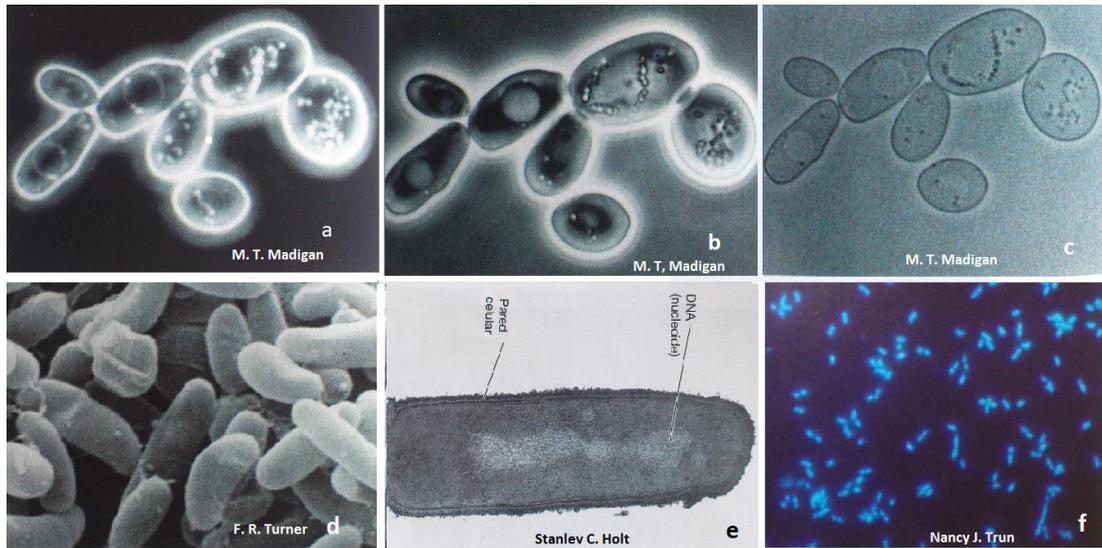
**HOT:** Human oral taxon.

**Tabla 7b.** Implicaciones odontológicas en especies del *Phylum* TM7.

Species used in HOMIM technique	Oral infections (OI)	Papers OI
<i>TM7[G-1] sp. HOT-347 / TM7[G-2] sp. HOT-350_Y77</i>	Periodontal pathogen	(Griffen 2012)
<i>TM7[G-1] spp. HOT-346,347_AH43</i>	Periodontal pathogen	(Colombo 2009), (Teles 2013)
<i>TM7[G-1] spp. HOT-346,349_W85</i>	Periodontitis HOT-346, 349	(Teles 2013)
<i>TM7[G-5] sp. HOT-356_AH42</i>	Refractory periodontitis	(Colombo 2009), (Teles 2013)
<i>TM7[G-5] spp. HOT-356,437_O32</i>	Refractory periodontitis (HOT-437)	(Colombo 2009)

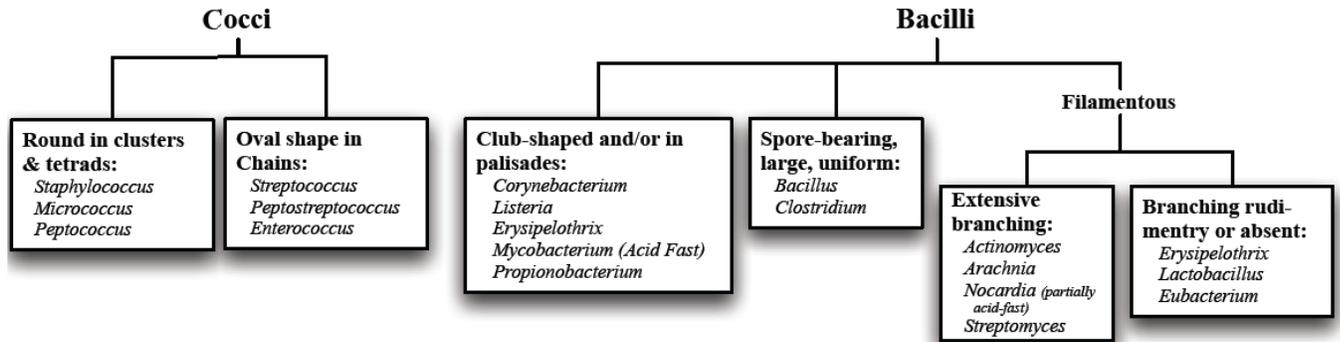
**HOT:** Human oral taxon.

## Figuras

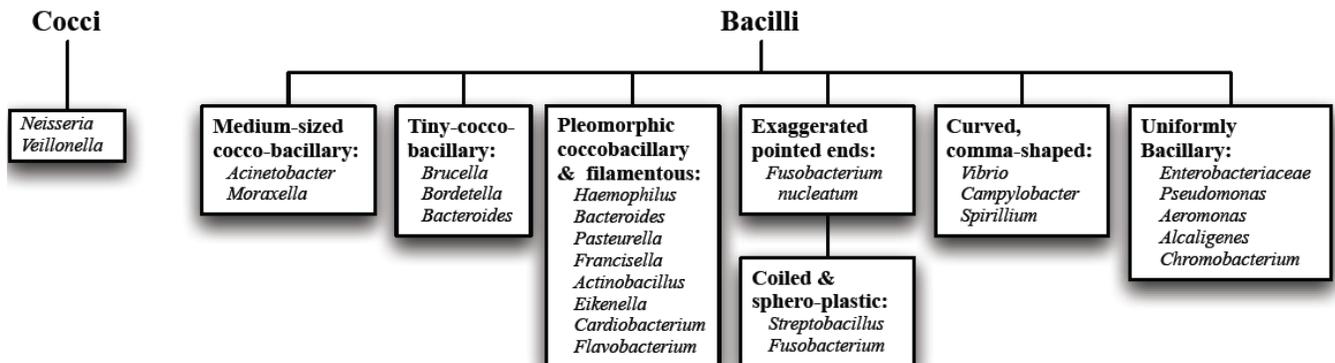


**Figura 1.** Células vistas en diferentes tipos de microscopía. a) campo oscuro, b) contraste de fases, c) campo claro, d) electrónica de barrido (SEM-Scanning Electron Microscopy), e) electrónica de transmisión (TEM-Transmission Electron Microscopy) y f) fluorescencia (Madigan 2009).

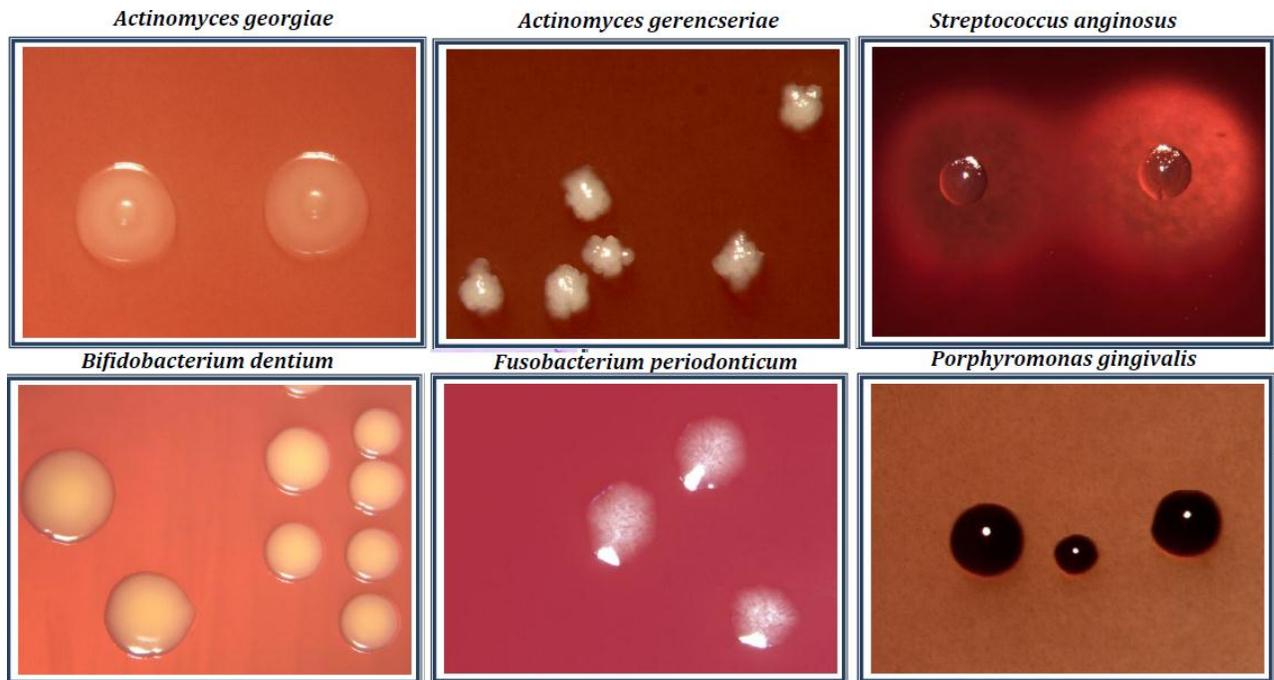
## Gram Positive



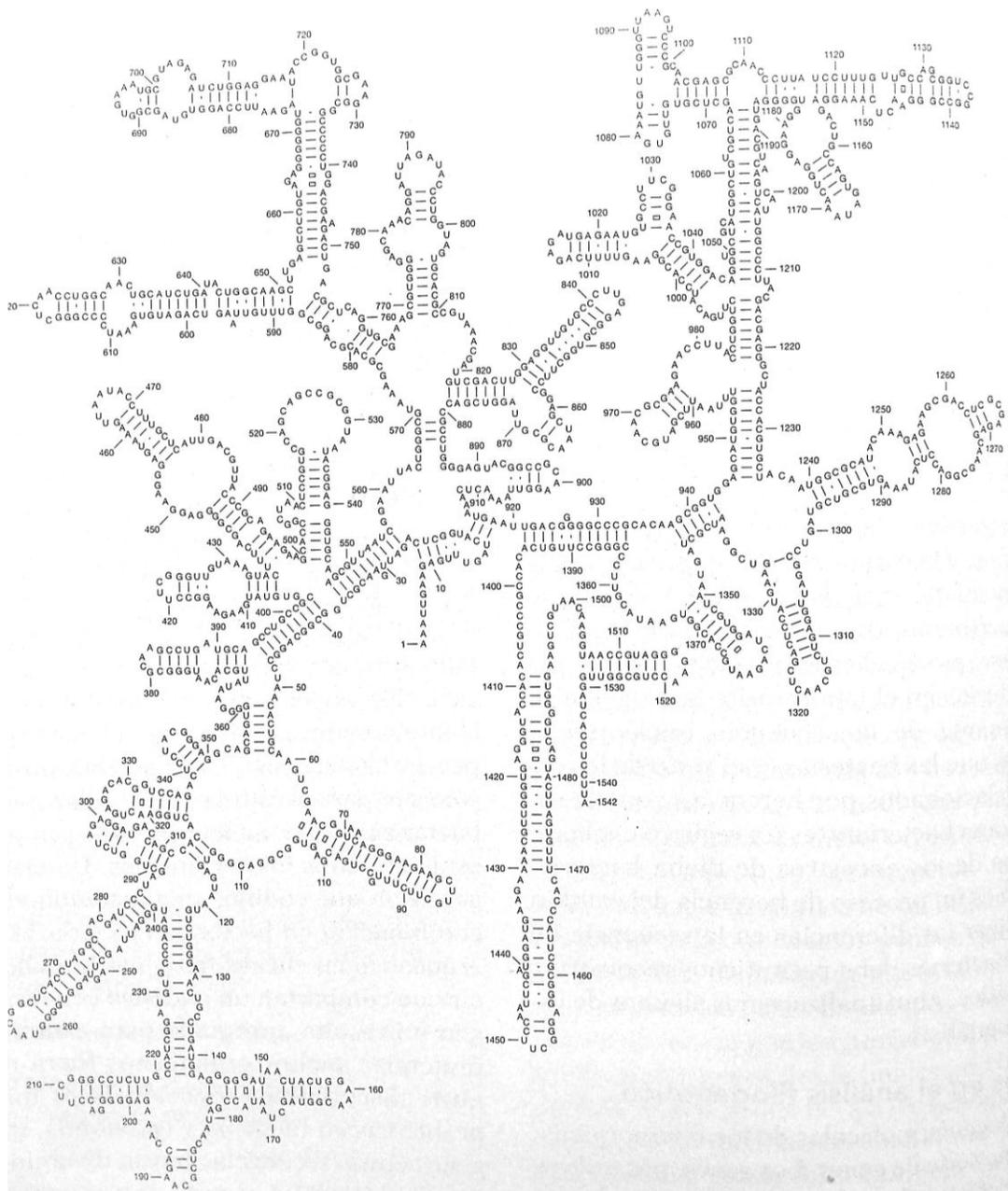
## Gram Negative



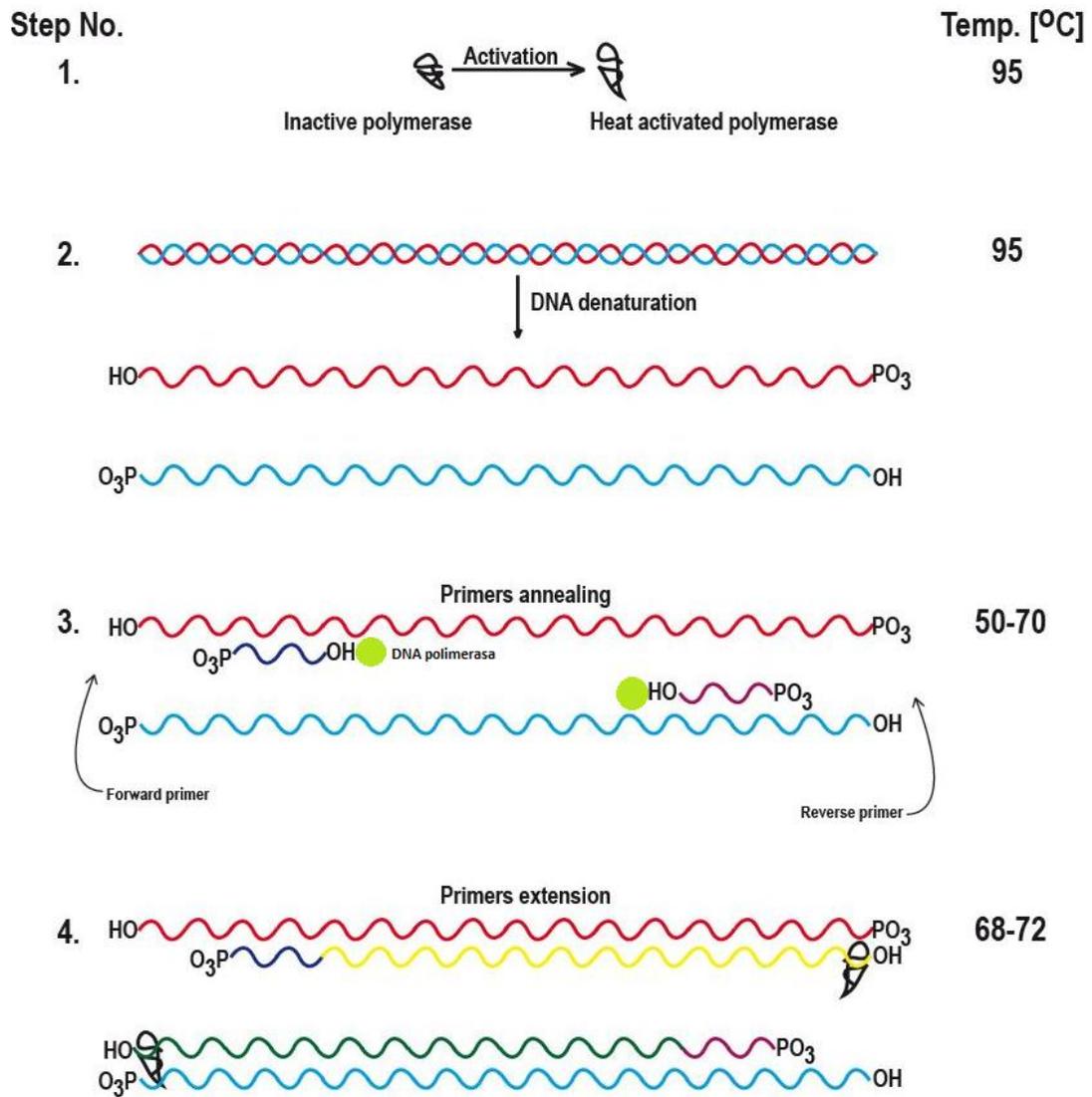
**Figura 2.** Clasificación de los dos grandes grupos bacterianos en base a su tinción y su morfología celular. Se clasifican en morfología de cocos Gram positivos sub-agrupados en racimos y tétradas por un lado, y por otro en cadenas; bacilos Gram positivos se sub-agrupan en empalizadas, con formación de esporas, y por otro lado en bacilos filamentosos de ramificaciones diversas, sin ramificaciones o ramificaciones rudimentarias. Morfología de cocos Gram negativos (diplococos); y bacilos Gram negativos en tamaño medio coco-bacilares, tamaño minúsculo coco bacilares, morfología pleomorfa y filamentosa coco bacilares, terminaciones largas y en punta o redondeadas, con formas de curvatura en coma, bacilares uniformes (Bergey 1994).



**Figura 3.** Morfología de colonia de diferentes especies bacterianas. Se puede observar que es de gran importancia la descripción de las características macroscópicas para la diferenciación entre especies bacterianas. Estas características pueden ser: forma circular ó irregular; bordes bien definidos o difusos; apariencia suave, cremosa, brillante, translúcida, opaca; coloración blanca, negra, rojiza; aspecto convexo, liso, rugoso; entre otras características (Pérez S 2011).

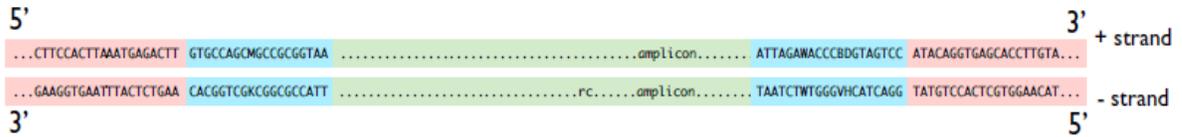


**Figura 4.** Representación de la configuración de la fracción 16S rRNA. Molécula diana para diversas técnicas de identificación genotípica. Gracias a sus regiones hipervariables que conforman secuencias específicas dentro de un determinado grupo filogenético, puede dar alta especificidad entre especies y géneros bacterianos (Madigan 2009).

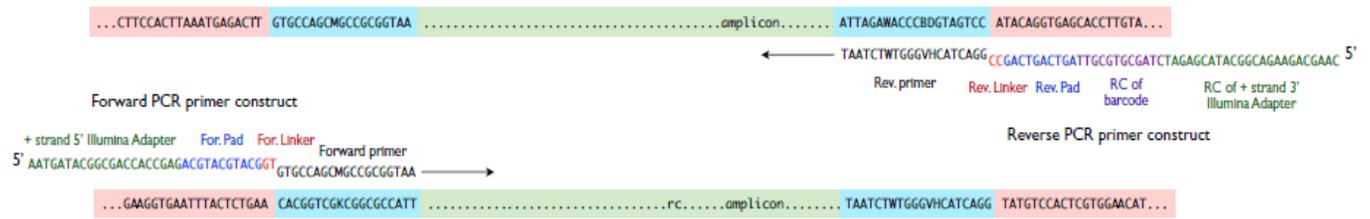


**Figura 5.** Etapas de la amplificación de la fracción 16S rRNA por PCR. La amplifica a través de varios ciclos de temperatura, por medio de un termociclador, adicionando primers universales, DNA polimerasa (Taq), dNTP's y buffer para PCR (<http://bio-ggs.blogspot.mx/2011/01/ggs-live-polymerase-chain-reaction-pcr.html>).

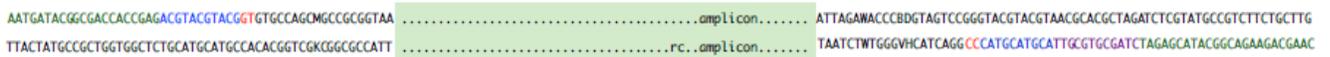
Target gene:



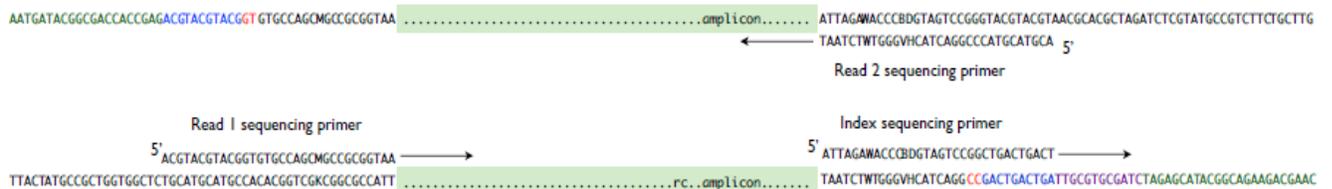
Amplification primers with annealing sites:



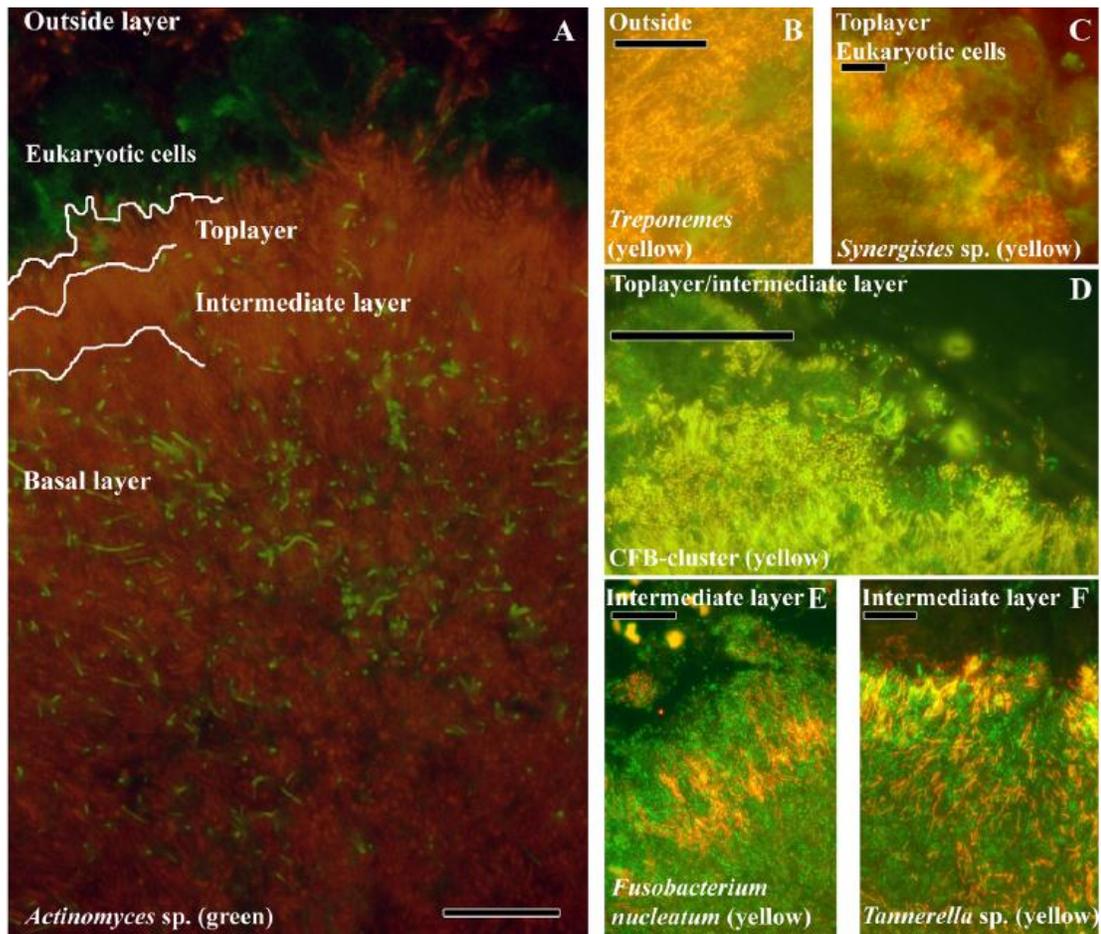
Amplification products:



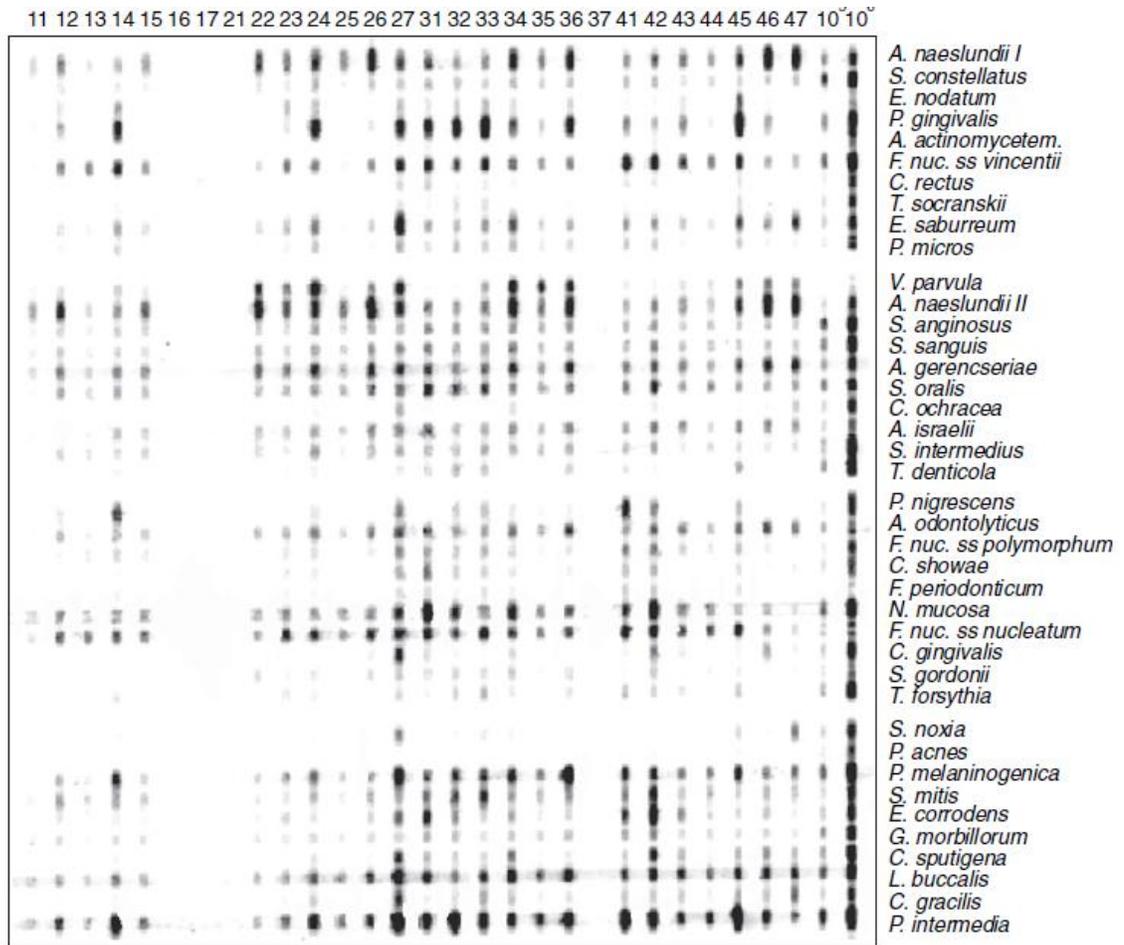
Sequencing primers with annealing sites:



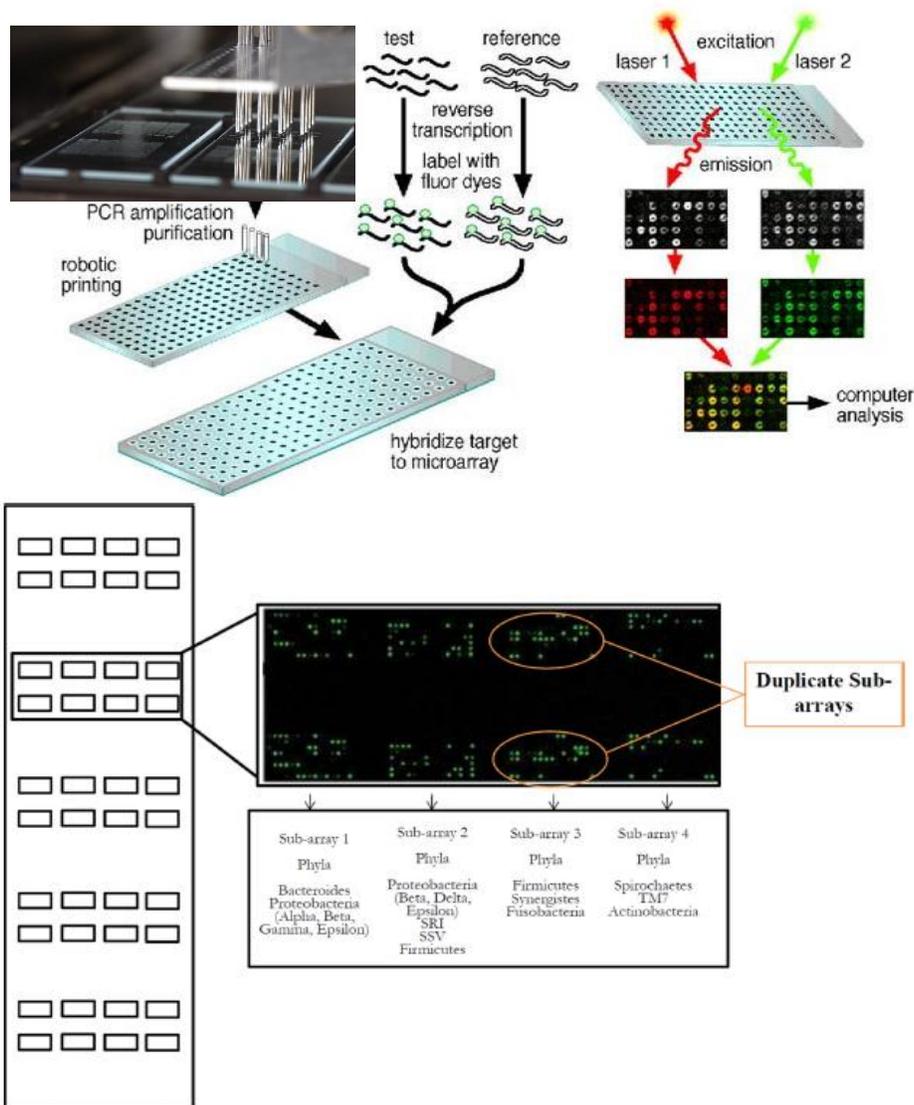
**Figura 6.** Método de secuenciación donde las regiones conservadas del gen identificadas con azul, flanquean la región de hipervariabilidad (verde). Con el diseño de primers universales ubicados en las regiones conservadas, se realiza la amplificación por PCR. Se utilizan 3 primers en total para producir el amplicón con un primer de inicio, uno fin, y uno indexo (interno) (Caporaso 2010).



**Figura 7.** Identificación y localización por medio de la técnica de FISH, de especies de la placa dentobacteriana subgingival, en un modelo de diente extraído. Mediante el marcaje fluorescente de sondas de oligonucleótidos de 16S rRNA, se puede obtener la localización por especies en el las distintas capas de la biopelícula (Zijnge 2010).

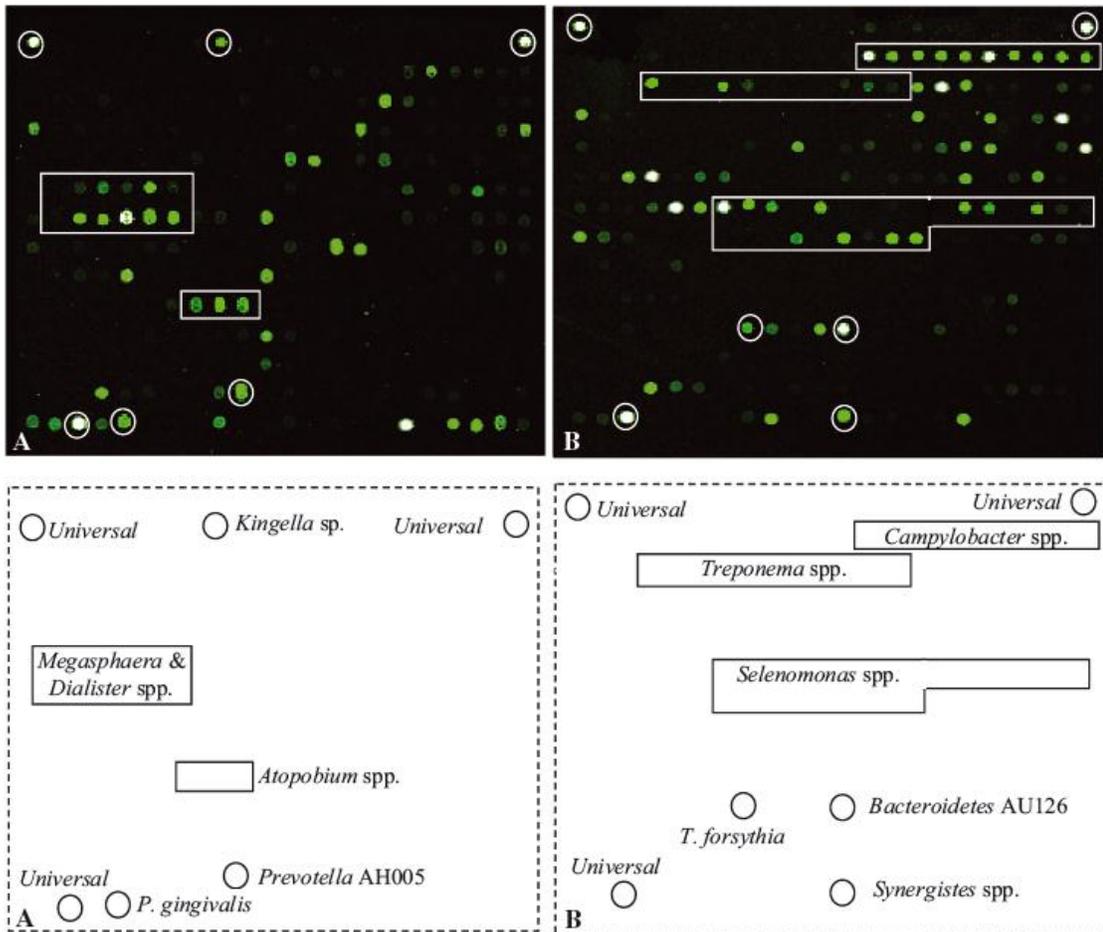


**Figura 8.** Imagen de la técnica de checkerboard, analizando 28 de muestras de placa dentobacteriana, en un panel de 40 especies bacterianas que son identificadas simultáneamente. Las señales bacterianas se miden por la intensidad de la señal en damero, comparándola con estándares de mezclas de las 40 especies a  $10^5$  y  $10^6$  células bacterianas (Socransky 2005).

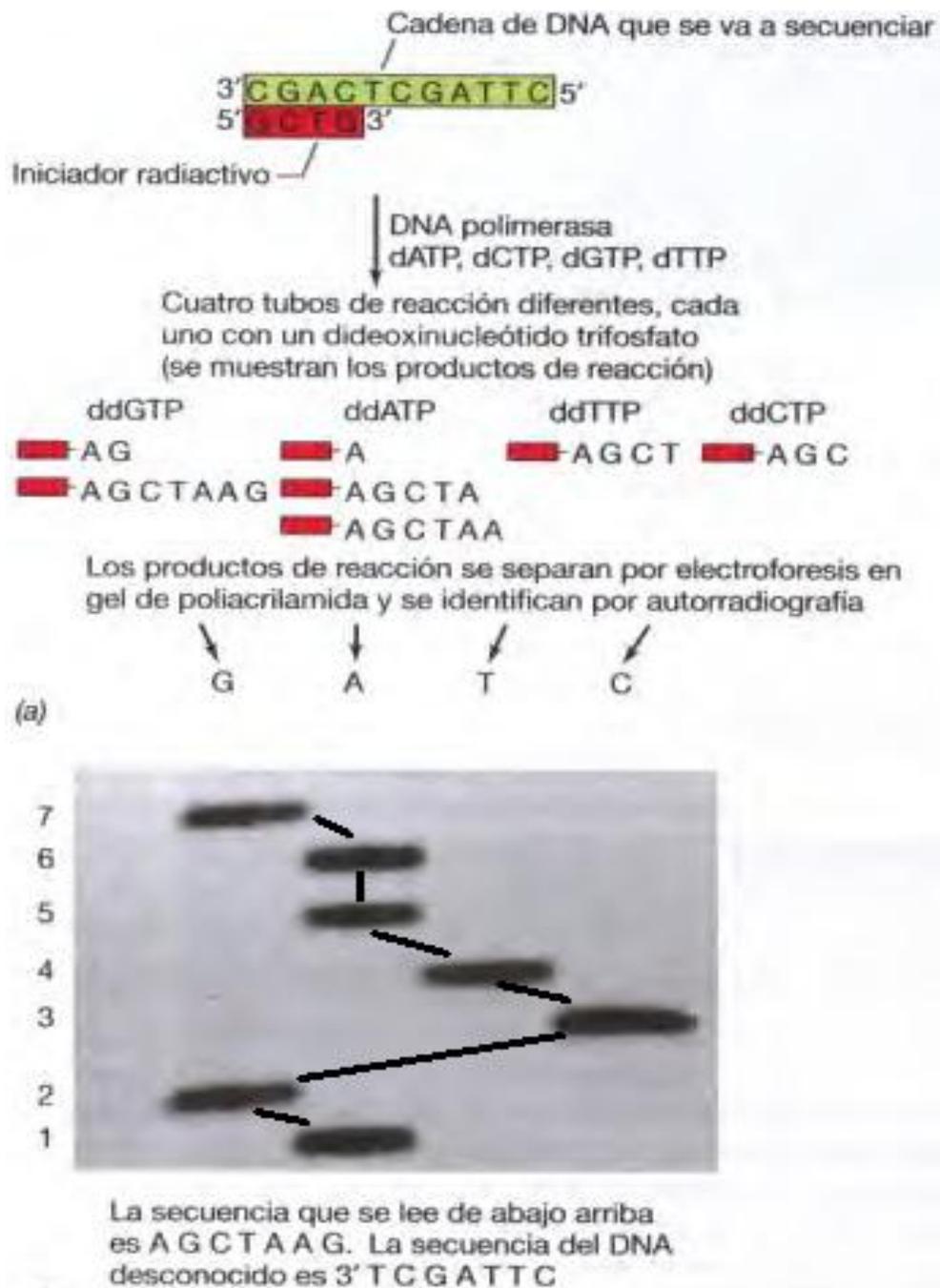


**Figura 9.** Principios básicos de la técnica de microarreglos. Las sondas se amplifican por PCR, seguido de su impresión sobre un portaobjetos de vidrio. Las muestras (test) se someten a extracción de DNA y son etiquetadas con una marca fluorescente Cy3, junto con una muestra de control positivo (reference). Se pone a hibridizar la muestra en la laminilla de cristal. Posterior a la hibridación, las muestras son sometidas a un proceso de excitación para que las señales fluorescentes sean captadas por escáner para su cuantificación. Las sondas están organizadas en grupos filogenéticos como se muestra en el esquema de la laminilla de HOMIM.

(<http://bme240.eng.uci.edu/students/08s/jentel/Diagnose-hereditary-disease.htm>; Colombo 2009).



**Figura 10.** Perfil microbiano de un sitio de la cavidad oral obtenido por HOMIM, donde 301 señales (sondas de oligonucleótidos) se encuentran en cada microarreglo y van dirigidas a 200 especies bacterianas. Tres sondas universales están presentes en cada matriz para garantizar la orientación adecuada. **A.** Perfil correspondiente a un sitio sano de un sujeto sano periodontal. **B.** Correspondiente a un sitio enfermo de un sujeto con periodontitis (Paster, 2006).

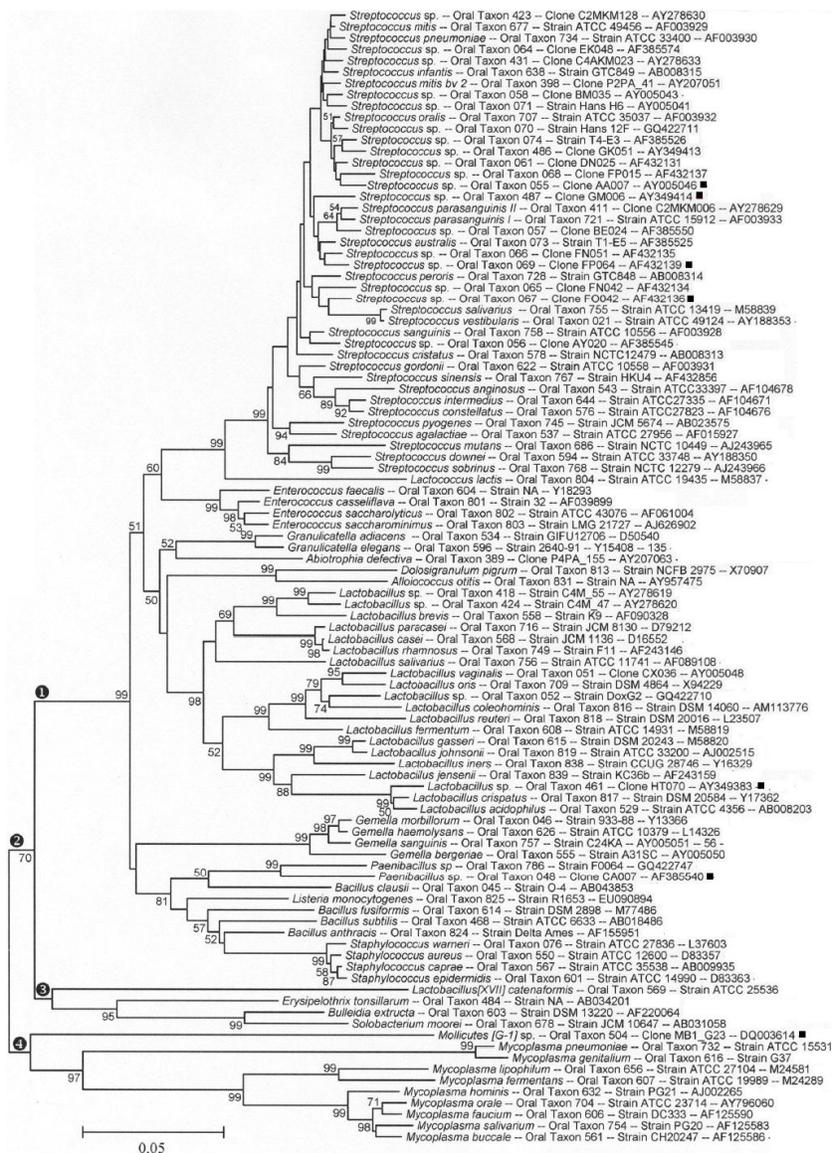


**Figura 11.** Metodología de secuenciación de Sanger de una hebra de DNA mediante el diseño de primers radioactivos, adición de DNA polimerasa y trifosfatos de desoxirribonucleótidos separados en cuatro tubos, seguido de la separación por electroforesis y su final lectura a través de una autorradiografía (Madigan 2009).

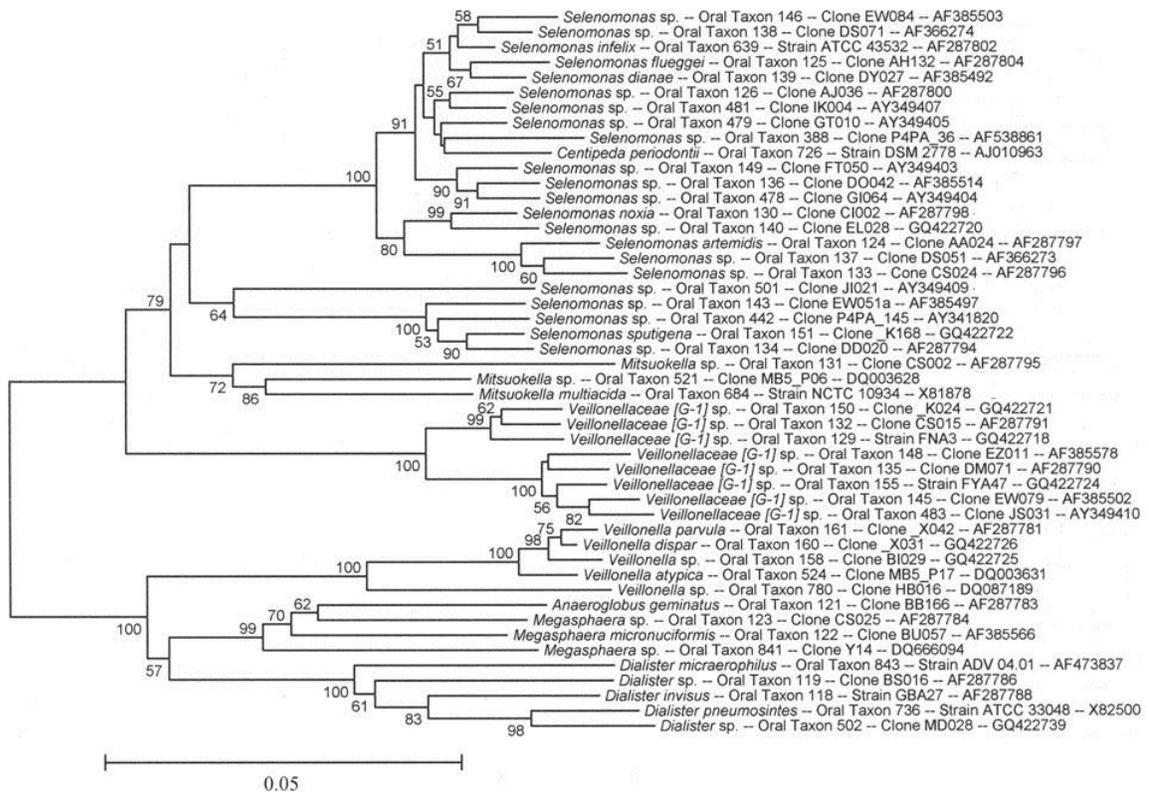
TABLE 1. Phylogenetic distribution of 619 taxa in HOMD version 10

Phylum	No. (%) of:			
	Taxa <sup>a</sup>	Named species <sup>b</sup>	Unnamed cultivated taxa <sup>c</sup>	Unnamed uncultivated taxa <sup>d</sup>
<i>Bacteria</i>				
<i>Firmicutes</i>	227 (36.7)	120 (52.9)	45 (19.8)	62 (27.3)
<i>Bacteroidetes</i>	107 (17.3)	39 (36.4)	27 (25.2)	41 (38.3)
<i>Proteobacteria</i>	106 (17.1)	70 (66.0)	9 (8.5)	27 (25.5)
<i>Actinobacteria</i>	72 (11.6)	37 (51.4)	25 (34.7)	10 (13.9)
<i>Spirochaetes</i>	49 (7.9)	11 (22.4)	3 (6.1)	35 (71.4)
<i>Fusobacteria</i>	32 (5.2)	12 (37.5)	4 (12.5)	16 (50.0)
TM7	12 (1.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	12 (100.0)
<i>Synergistetes</i>	10 (1.6)	2 (20.0)	0 (0.0)	8 (80.0)
<i>Chlamydiae</i>	1 (0.2)	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
<i>Chloroflexi</i>	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
SR1	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)
<i>Archaea</i>				
<i>Euryarchaeota</i>	1 (0.2)	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Total	619 (100)	293 (47.3)	113 (18.3)	213 (34.4)

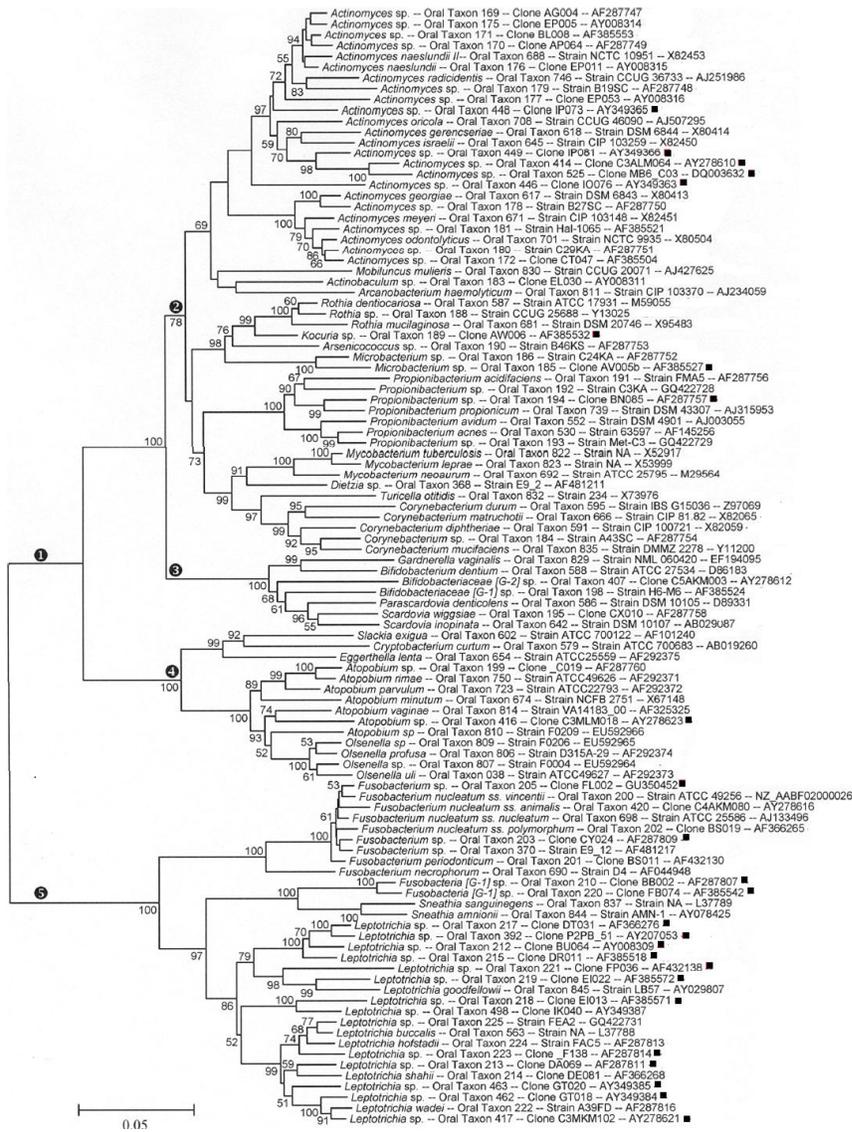
**Figura 12.** Distribución filogenética de 619 tipos de Taxa en la versión 10 de HOMIM. **Taxa<sup>a</sup>:** especies mencionadas y su *Phylum* microorganismos cultivables y no cultivables. **Named species<sup>b</sup>:** Especies nombradas formalmente. **Unnamed cultivated taxa<sup>c</sup>:** “Taxa” cultivables sin nombre, *Phylum* que tienen al menos un aislamiento existente. **Unnamed uncultivated taxa<sup>c</sup>:** “Taxa” no cultivados, *Phylum* conocidos sólo de secuencias de clonas (Dewhirst, 2010).



**Figura 13.** Especies de los géneros *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Granulicatella*, *Gemella*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* de la Clase *Bacilli* dentro del círculo 1; especies del clase *Erysipelotrichia* Phylum *Firmicutes* dentro del círculo 3 y especies del Phylum *Tenericutes* en el círculo 4, con sus respectivos números de taxón oral (HOT). Las especies no cultivables se encuentran marcadas con un símbolo cuadrado seguido de la clona o cepa oral. La distancia que se presenta entre cada especie (0.05) representa la similitud entre las mismas (Dewhirst 2010).



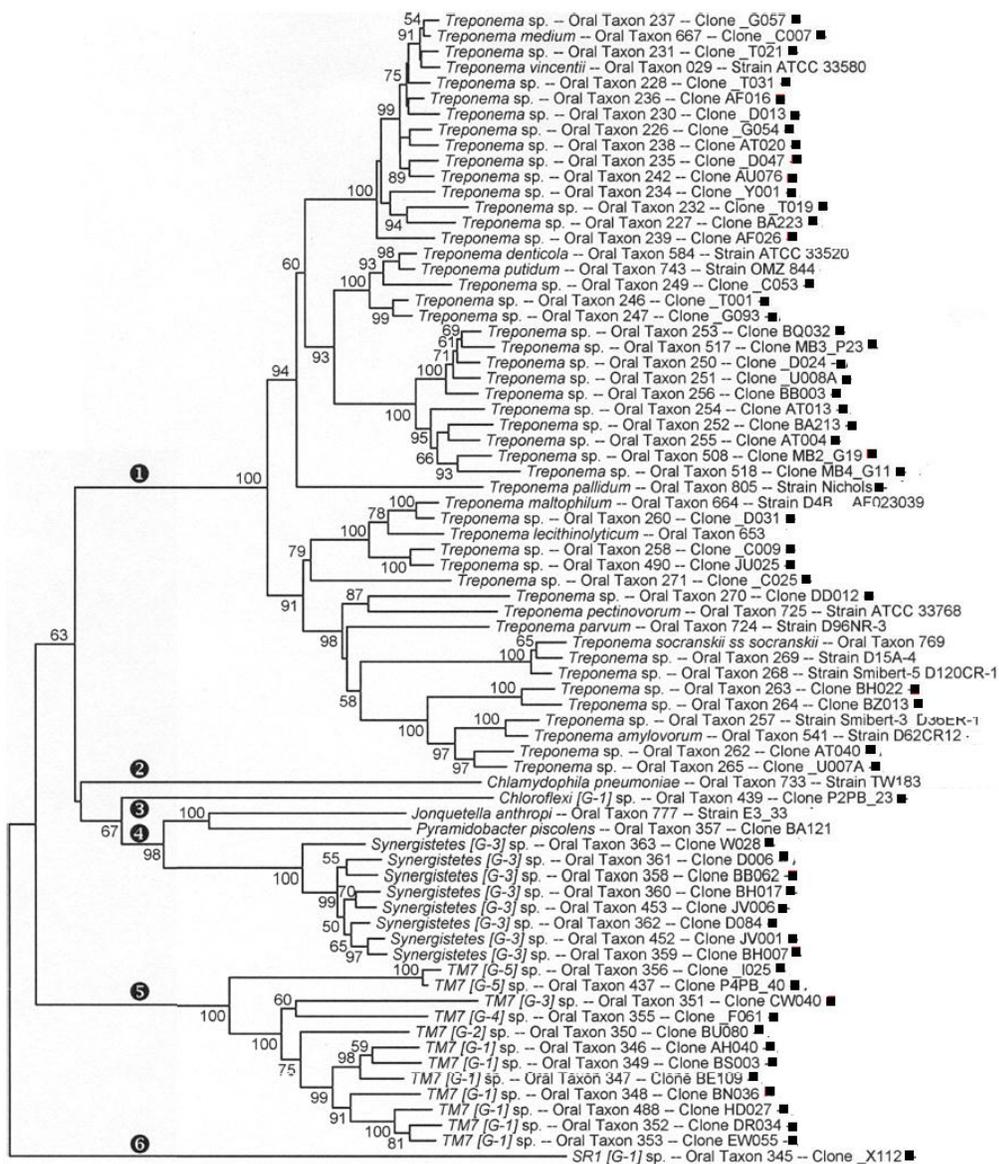
**Figura 14.** Representantes de la familia *Veillonellaceae* de la clase *Clostridia*, *Phylum Firmicutes*, con especies de *Selenomonas* sp., *Veillonella*, *Dialister*, *Megasphaera* y *Anaeroglobus*. La distancia que se presenta entre cada especie (0.05) representa la similitud entre las mismas (Dewhirst 2010).



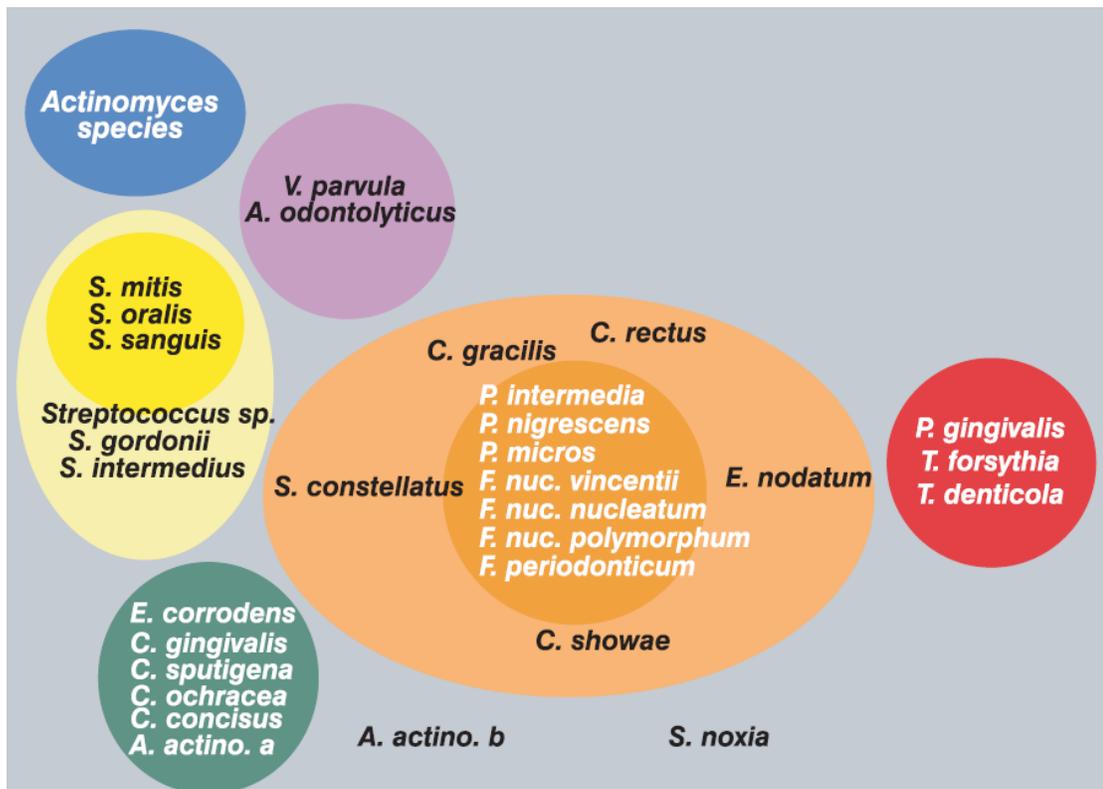
**Figura15.** El orden *Actinomycetales*, círculo 2 contiene los géneros *Actinomyces*, *Atopobium*, *Rothia*, *Propionibacterium* y *Corynebacterium*; orden *Bifidobacteriales*, círculo 3 contiene los géneros *Bifidobacterium*, *Parascardovia* y especies de *Scardovia*; orden *Coriobacteriales*, círculo 4 con especies de *Olsenella*, *Atopobium* y *Slackia exigua*, *Phylum Actinobacteria*; y los dos grandes géneros *Fusobacterium* y *Leptotrichia*, círculo 5 con especies en su mayoría no cultivables del *Phylum Fusobacteria*. Las especies no cultivables se encuentran marcadas con un símbolo cuadrado seguido de la clona o cepa oral (Dewhirst 2010).



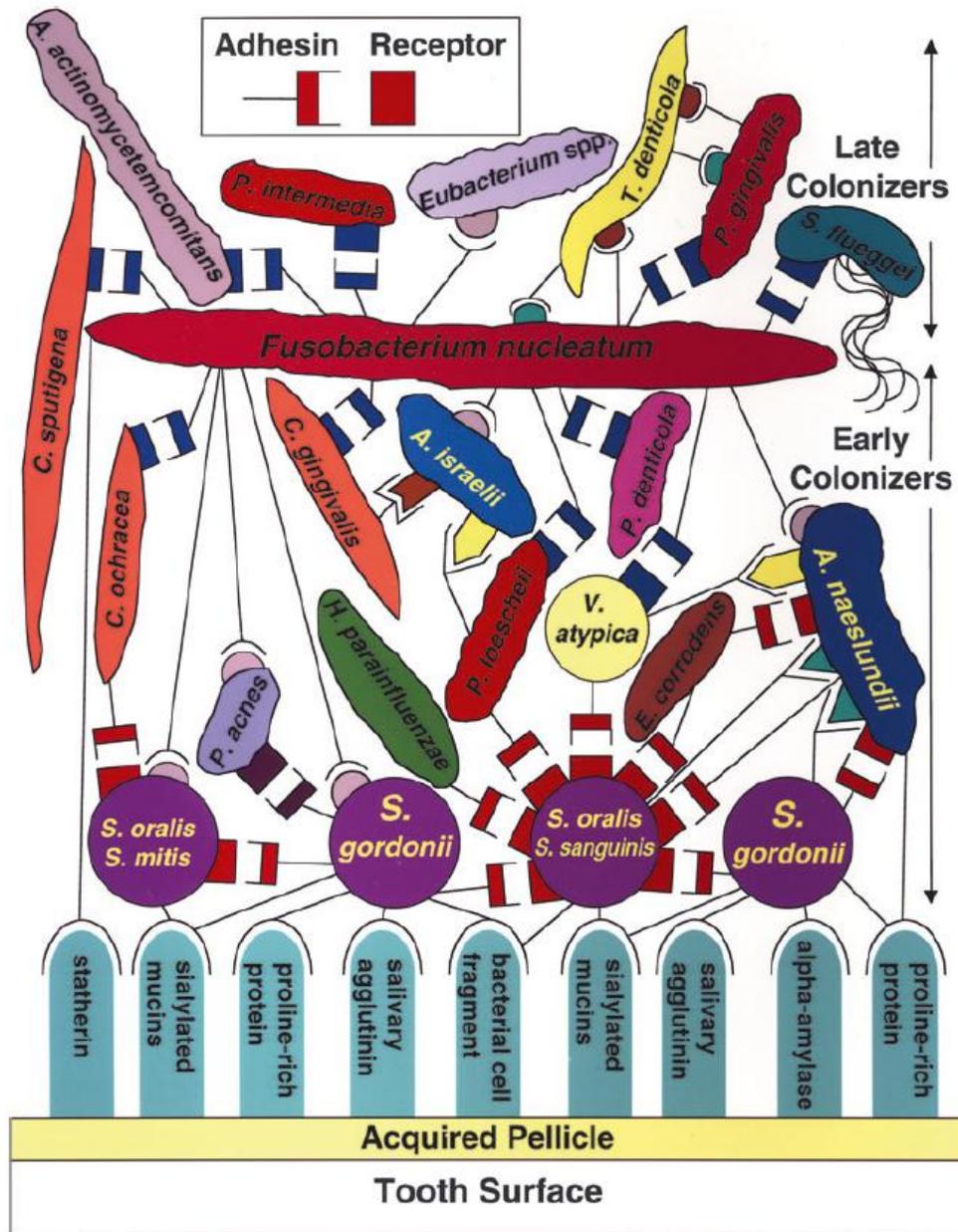
**Figura 16.** Especies del género *Prevotella* círculo 0; *Bacteroides* círculo 1; géneros *Tannerella* y *Porphyromonas* dentro del círculo 2; géneros sin nombre dentro de los círculos 3, 4, 5 y 6; y especies del género *Bergeyella* y *Capnocytophaga* del Phylum *Bacteroidetes*. Especies no cultivables marcadas con un símbolo cuadrado seguido de la clona o cepa oral. La distancia que se presenta entre cada especie (0.05) representa la similitud entre las mismas (Dewhirst 2010).



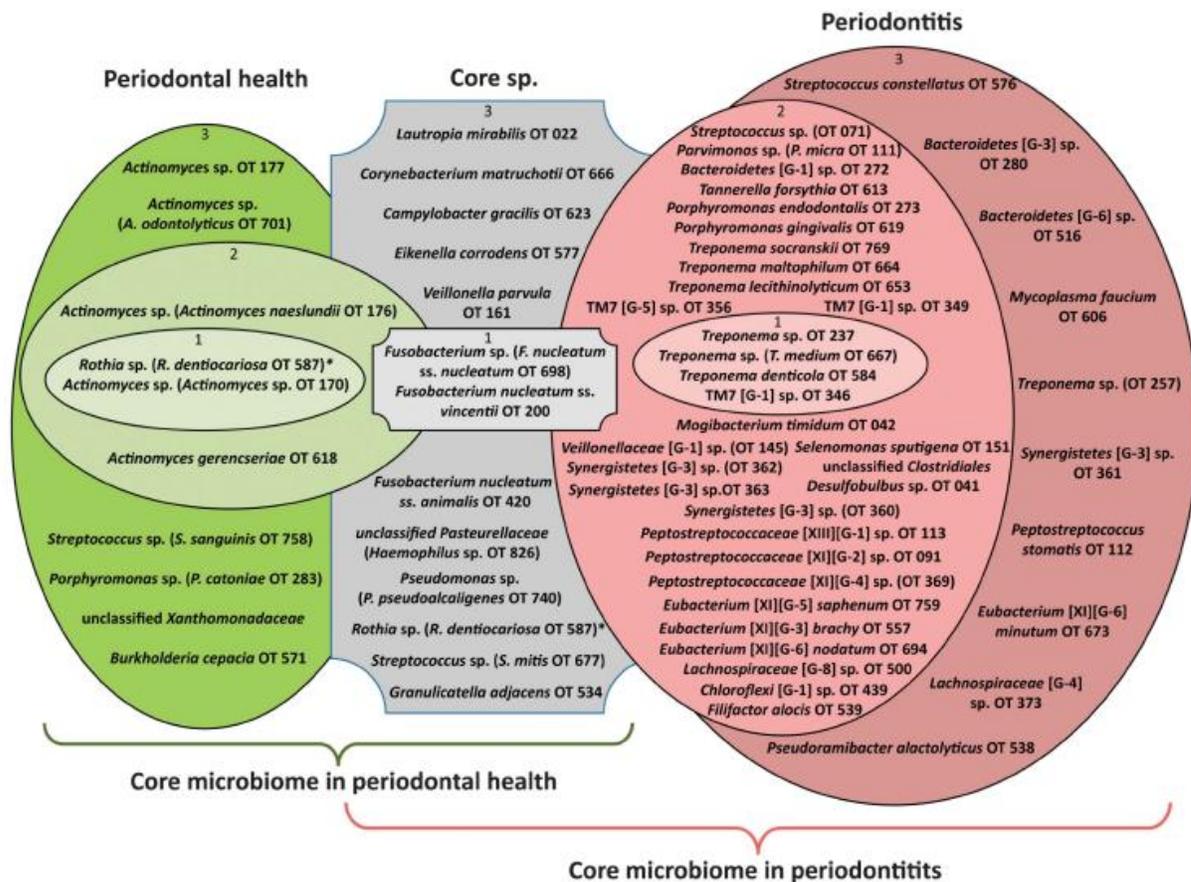
**Figura 17.** Especies del “Phylum” Spirochaetes círculo 1, Synergistetes círculo 4; y TM7 círculo 5. Especies no cultivables marcadas con un símbolo cuadrado seguido de la clona o cepa oral (Dewhirst 2010).



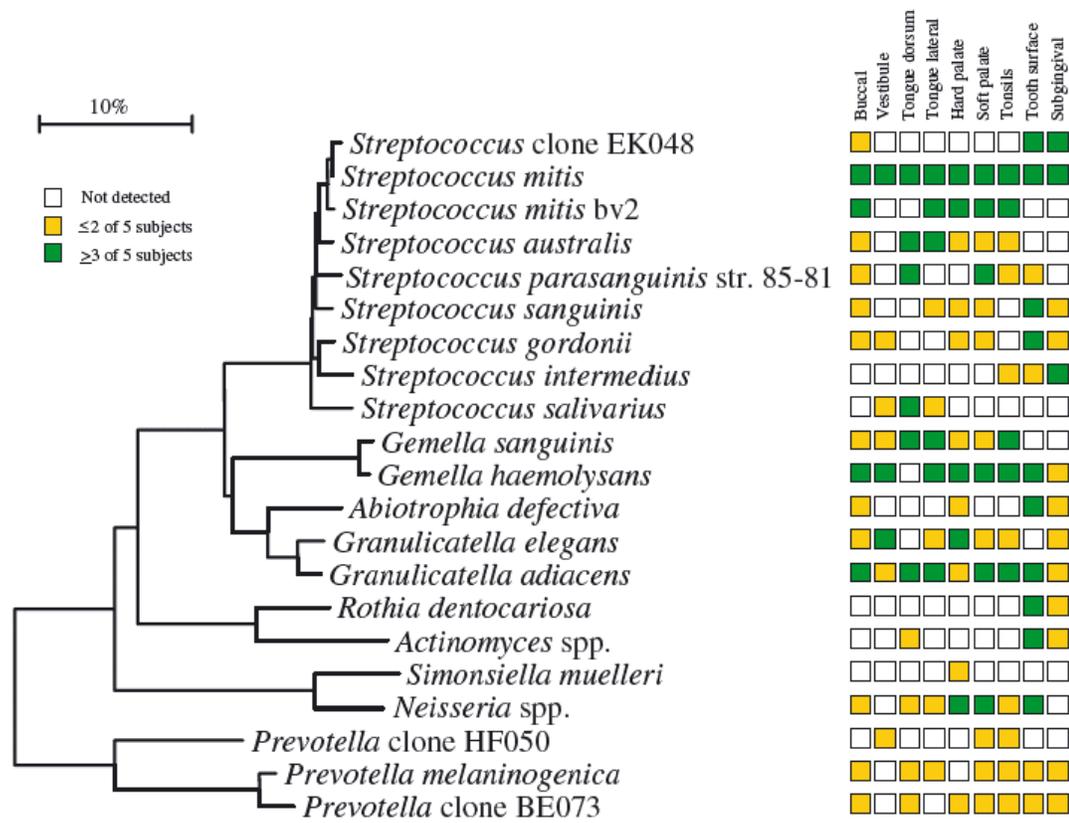
**Figura 18.** Representación esquemática de las asociaciones e interacciones entre las especies de los complejos microbianos de la placa dentobacteriana subgingival, creados por Socransky en 1998 (Socransky 2005).



**Figura 19.** Esquema de la colonización bacteriana oral, demostrando el reconocimiento de los receptores a las adhesinas de la película adquirida, ayudando a la colonización de bacteriana (adhesión), coagregación entre primeros colonizadores y colonizadores puentes y tardíos (Kolenbrander, 2006).



**Figura 20.** Modelo de referencia de los cambios ecológicos en la estructura de la comunidad subgingival desde la salud a la enfermedad. Los distintos “Taxa” que forman parte de la microbiota “core” se definen como los presentes en al menos el 50 % de los sujetos de ambos estados de salud-enfermedad (lila), en al menos el 50 % de los sujetos sanos (verde) y en al menos 50 % de los sujetos con periodontitis (rojo) (Abusleme 2013).



**Figura 21.** Detección de especies predominante en sitios específicos de la cavidad oral. *Gemella*, *Granulicatella*, *Streptococcus* y *Veillonella*, son comunes a todos los sitios. Sin embargo, muchas especies son específicas de un sitio, como es *R. dentocariosa*, *Actinomyces* sp., *S. sanguinis*, *S. gordonii* y *A. defectiva*, detectados en placa supragingival, y *S. salivarius* en dorso de la lengua (Aas 2005).

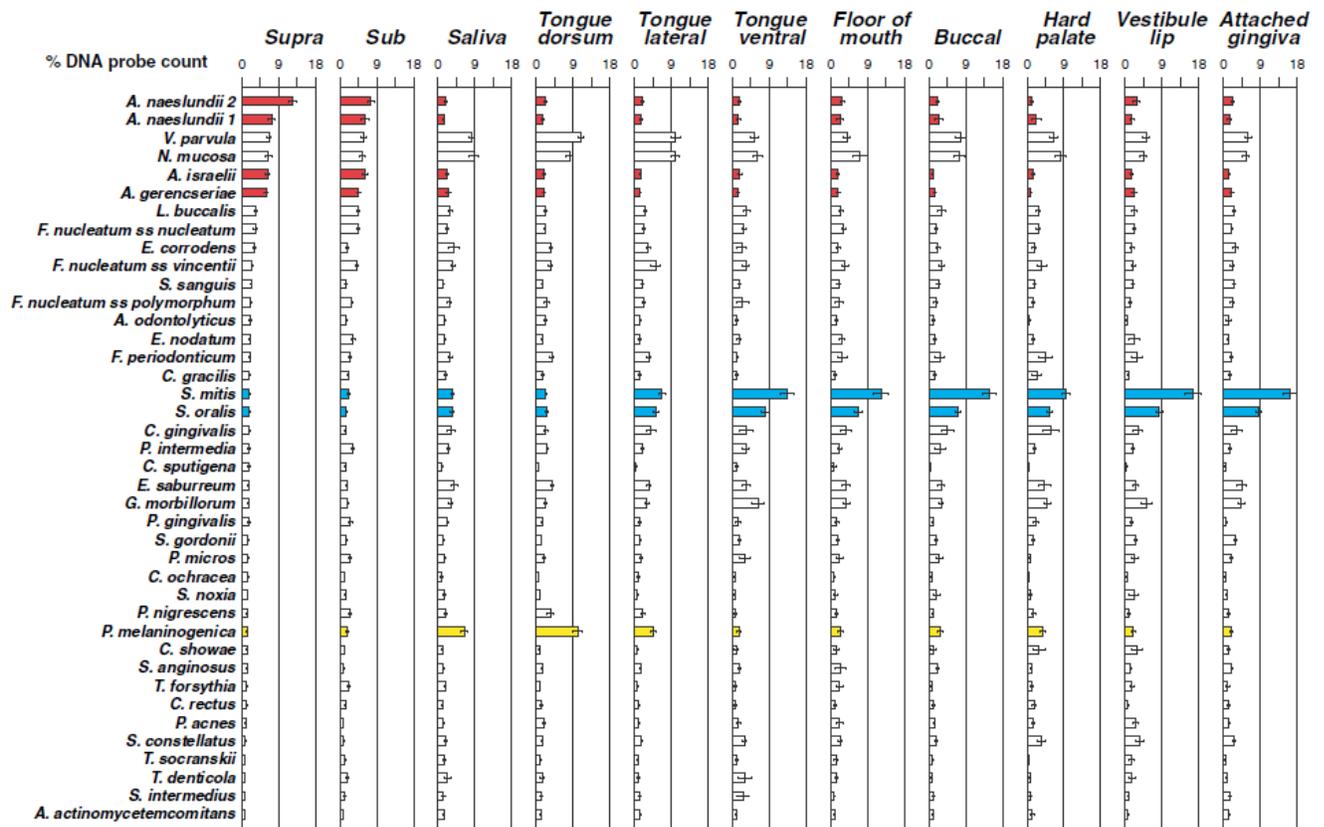
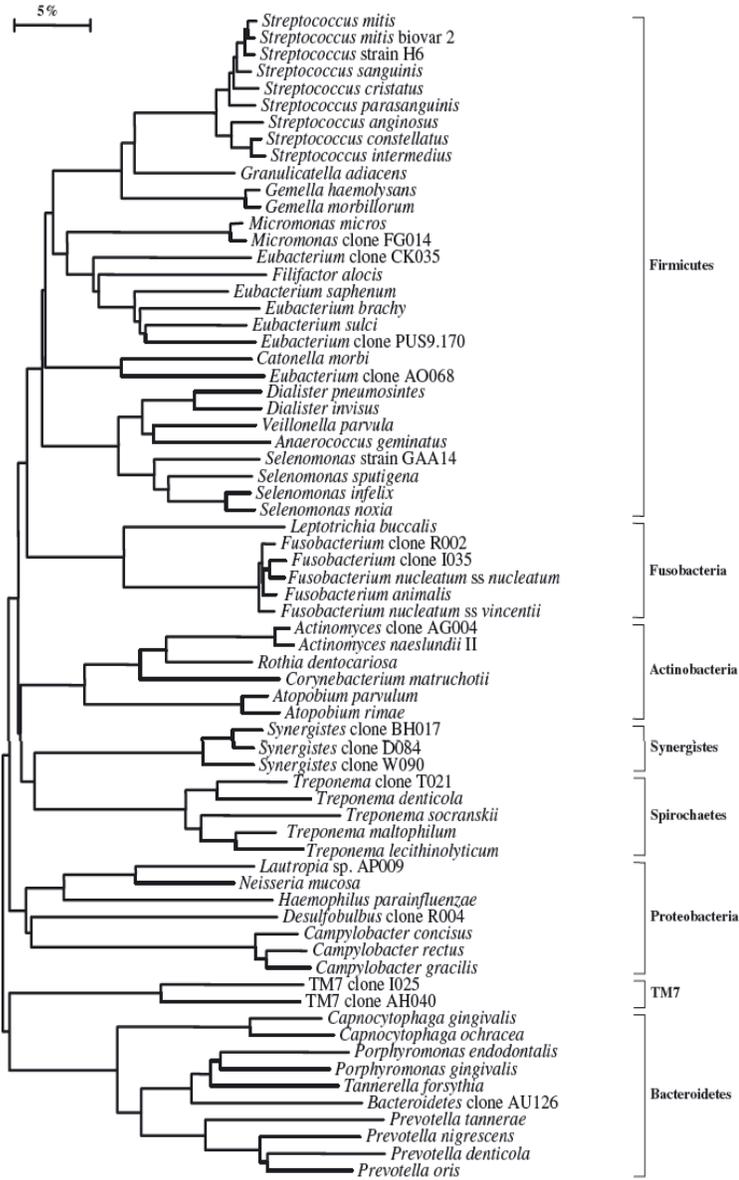


Figura 22. Porcentaje del conteo de sondas de DNA de 40 cepas bacterianas encontradas en diversas localizaciones intraorales. Las barras sombreadas representan las especies que han mostrado diferencias particularmente marcadas entre los distintos sitios (Mager, 2003).



**Figura 23.** Diversidad bacteriana en cavidad oral. Árbol filogenético de las especies cultivables y no cultivables predominantes en la bolsa periodontal (Paster 2006).